

Contribution à l'étude biochimique du myélome multiple et des dysprotéïnémies

(A propos de 41 observations)

Travail du Laboratoire de Chimie Hématologique
de l'Institut Pasteur de Lyon,
et du Service du Professeur Croizat et du Docteur Revol

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE
DE LYON

et soutenue publiquement le 28 Novembre 1955

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Lucien CHARVILLAT

ANCIEN ÉLÈVE DE L'ÉCOLE DU SERVICE DE SANTÉ MILITAIRE
DIPLOMÉ D'HÉMATOLOGIE

Né le 13 Septembre 1927, à Clermont-Ferrand.

IMPRIMERIE DE TRÉVOUX
J. PATISSIER

1955

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE BIOCHIMIQUE
DU MYÉLOME MULTIPLE ET DES DYSPROTÉINÉMIES



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Contribution à l'étude biochimique du myélome multiple et des dysprotéïnémies

(A propos de 41 observations)

Travail du Laboratoire de Chimie Hématologique
de l'Institut Pasteur de Lyon,
et du Service du Professeur Croizat et du Docteur Revol

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
DE LYON

et soutenue publiquement le 28 Novembre 1955

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MEDECINE

PAR

Lucien CHARVILLAT

ANCIEN ÉLÈVE DE L'ÉCOLE DU SERVICE DE SANTÉ MILITAIRE
DIPLOMÉ D'HÉMATOLOGIE

Né le 13 Septembre 1927, à Clermont-Ferrand.

IMPRIMERIE DE TRÉVOUX

J. PATISSIER

1955

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Doyen honoraire	M. J. LÉPINE
Doyen	M. H. HERMANN
Assesseur	M. J. GATE

Professeurs Honoraires

MM. NICOLAS, COLLET, CLUZET, BÉRARD, GUIART, PIERY, CADE, PATEL, LÉPINE, SAVY, TRILLAT, LERICHE, MOURIQUAND, MAZEL, LEULIER, GARIN

Professeurs

Clinique médicale A.....	FROMENT
Clinique médicale B.....	P. KAVAUULT
Clinique chirurgicale A.....	SANTY
Clinique chirurgicale B.....	WERTHEIMER
Clinique Ophtalmologique	BONNET
Clinique urologique	CIBERT
Clinique et prophylaxie de la tuberculose.....	DUFOUR
Clinique dermatologique et syphiligraphique.....	GATE
Clinique neuro-psychiatrique et Hygiène mentale.....	DECHAUME
Clinique des maladies infectieuses et bactériologie.....	SEDALLIAN
Clinique chirurgicale orthopédique et infantile.....	GUILLEMINET
Clinique gynécologique	POLLOSSON
Clinique obstétricale	PIGEAUD
Clinique stomatologique	DUCLOS
Clinique médicale Infantile et Hygiène du 1 ^{er} Age..	BERNHEIM
Clinique oto-rhino-laryngologique	MAYOUX
Physiologie	HERMANN
Anatomie Pathologique	J. F. MARTIN
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie..	PONTHUS (détaché à Beyrouth)
Thérapeutique chirurgicale et Chirurgie opératoire..	ROCHET
Chimie organique et toxicologie.....	CHAMBRON
Pathologie générale et expérimentale.....	JOSSERAND
Hydrologie therap., climatologie et écologie sociale.	DELORE
Anatomie	GABRIELLE
Pathologie interne	CROIZAT
Chimie biologique et médicale.....	ENSELME
Pathologie chirurgicale	MALLET-GUY
Histologie	NOEL
Pharmacie galénique et matière médicale	REVOL
Médecine du Travail.....	BOURRET
Thérapeutique	LEVRAIT
Hygiène et Action sanitaire et sociale.....	SOHIER
Biologie médicale et pharmacodynamie.....	JOURDAN
Botanique et Cryptogamie.....	NÉTIEN
Propédeutique chirurgicale	BERTRAND
Chimie analytique Pharmaceutique	BADINAN
Pharmacie et Pharmacologie.....	DREYON
Médecine Légale et Déontologie.....	ROCHE
Parasitologie et Pathologie exotique.....	X...



Professeurs titulaires sans chaire

Obstétrique	BANSSILLON	Physique biologique	BERGER
-------------------	------------	--------------------------	--------

Maîtres de Conférences — Agrégés

Parasitologie	ROMAN	Pharmacie galénique et	
Parasitologie	COUDERT	matière médicale	DORCHE
Physiologie	CIER	Anatomie	DUROUX
Physiologie	CHATONNET	Pharmacie et Pharmacol.	CIER A.
Chimie biologique et mé-		Hygiène	BÉNAZET
dicale	CREYSSSEL R.	Anatomie pathologique...	FEROLDI
Bactériologie	BEKTOYE A.	Chimie organique et toxi-	
		cologie	PERROT

Agrégés en exercice

Pathologie médicale	GALY	Ophtalmologie	PAUFIQUE
Pathologie médicale	GONIN	Obstétrique	MAGNIN
Pathologie médicale	GUINET	Obstétrique	MATHIEU J.
Pathologie médicale	PONT	Obstétrique	BURTHIAULT
Pathologie médicale	VIGNON	Oto-Rhino-Laryngologie.	GIGNOUX
Pathologie médicale	REVOL	Dermato-syphiligraphie.	THIERS
Pathologie médicale	TRAEGER	Urologie	PERRIN
Pathologie chirurgicale.	MANSUY	Neuro-chirurgie	LECUIRE
Pathologie chirurgicale.	DARGENT	Orthopédie	MARION J.
Pathologie chirurgicale.	GUILLET	Stomatologie	FREIDEL
Pathologie chirurgicale.	MARION P.	Electro-radiologie	PAPILLON
Pathologie chirurgicale.	MICHAUD	Pédiatrie et puériculture	FRANÇOIS
Pathologie chirurgicale.	JAUBERT DE BEAUJEU	Thérapeutique	BRETTE
Pathologie chirurgicale.	SAUTOT	Maladies infectieuses ...	MONNET

Chargé des Fonctions d'Agrégé

Médecine légale.....	COLIN
----------------------	-------

Chargés des Fonctions de Maître de conférences — Agrégés

Histologie	DUMONT L.	Physique biologique	MORET
------------------	-----------	--------------------------	-------

Examineurs de la Thèse

M. CROIZAT, Président ;

MM. R. CREYSSSEL, BÉNAZET et REVOL, Assesseurs.

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

JE DEDIE CE TRAVAIL

A MON PERE ET A MA MERE

Affectueusement.

A MA SOEUR ET A MON BEAU-FRERE

A MA FIANCÉE

A TOUTE MA FAMILLE

A MES AMIS

A NOTRE MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR CROIZAT

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR
PROFESSEUR DE PATHOLOGIE INTERNE

Il nous a accueilli dans son service avec la bienveillante bonté qui lui est coutumière. Son enseignement clinique, si vivant et si riche, nous a guidé parmi tous les aspects de la pathologie. Il a toujours su nous rappeler que le laboratoire ne devait jamais se séparer de la clinique, le malade demeurant notre préoccupation constante.

Il nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse, œuvre de ses laboratoires.

Nous le prions d'accepter l'hommage de notre reconnaissance.

A NOS JUGES

MONSIEUR LE MAITRE DE CONFÉRENCE AGRÉGÉ BÉNAZET

Il a bien voulu s'intéresser à notre travail et nous faire l'honneur d'être notre Juge.

Qu'il nous permette de lui exprimer notre reconnaissance.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ REVOL

Il s'est toujours montré compréhensif et accueillant. Il nous a confié certaines de ses observations.

Nous voulons l'assurer de notre reconnaissance et le remercier vivement d'avoir bien voulu faire partie de notre Jury.

MONSIEUR LE MAÎTRE DE CONFÉRENCE AGRÉGÉ R. CREYSSEL

Il nous a conseillé et aidé tout au long de nos études, nous inculquant le goût du laboratoire et de sa rigueur précise.

Nous ne pouvions avoir de meilleur maître, et nous espérons n'avoir pas déçu la confiance qu'il nous a témoignée.

Nous le remercions d'avoir bien voulu juger notre travail qu'il a guidé avec son enthousiasme communicatif. Il sait déjà toute la respectueuse admiration que nous avons pour lui.

A NOS MAITRES
DE LA FACULTÉ ET DES HOPITAUX

A MONSIEUR LE PROFESSEUR SEDALLIAN
DIRECTEUR DE L'INSTITUT PASTEUR DE LYON

A MONSIEUR LE DOCTEUR P. MOREL

Sa contribution à ce travail est grande. Il nous a donné toutes les indications concernant le myélogramme de la maladie de Kahler avec la plus grande amabilité. Ses descriptions brillantes et colorées nous ont montré les possibilités immenses de la cytologie à laquelle il nous a initié. Qu'il trouve ici le témoignage de notre reconnaissance.

A MONSIEUR LE DOCTEUR FAVRE-GILLY

Nous avons apprécié la clarté de son enseignement dans une matière difficile. Grâce à lui la Coagulation n'est plus pour nous un mystère. Ici nous voulons le remercier.

A MONSIEUR LE DOCTEUR GROULADE

*Qui nous a accueilli toujours avec la plus grande courtoisie.
En hommage respectueux.*

A MONSIEUR M. BOUDOT

Nous le remercions d'avoir bien voulu vérifier nos calculs statistiques.

A MONSIEUR LE MÉDECIN GÉNÉRAL GIRAUD

AGRÉGÉ DU VAL-DE-GRACE
DIRECTEUR DE L'ÉCOLE DU SERVICE DE SANTÉ MILITAIRE
ET DE L'HÔPITAL MILITAIRE D'INSTRUCTION DESGENETTES

A MONSIEUR LE PHARMACIEN COLONEL ACCOYER

CHIMISTE DES HÔPITAUX MILITAIRES
DIRECTEUR DU LABORATOIRE DE CHIMIE
DE L'HÔPITAL MILITAIRE DESGENETTES

Respectueux hommage.

A MONSIEUR LE MÉDECIN COLONEL CAMELIN

PROFESSEUR AGRÉGÉ DU VAL-DE-GRACE
MÉDECIN CHEF DU SERVICE DE MÉDECINE GÉNÉRALE
DE L'HÔPITAL MILITAIRE DESGENETTES

*Son service a toujours été pour nous
plein d'enseignements. Qu'il veuille
bien trouver ici l'expression de notre
gratitude.*

A MONSIEUR LE MÉDECIN LIEUTENANT COLONEL BARBIER

SPÉCIALISTE DES HÔPITAUX
MÉDECIN CHEF DU SERVICE O.R.L.
DE L'HÔPITAL MILITAIRE D'INSTRUCTION DESGENETTES

*Sa compréhension et son indul-
gence ont largement contribué à l'éla-
boration de ce travail. Nous lui expri-
mons notre respectueuse reconnais-
sance.*

A NOS AMIS
LES DOCTEURS AUBERT ET PAYEN

Cette thèse est la dernière expression du travail en équipe qui nous a unis durant nos études. Leur sympathie et leur aide m'ont été précieuses, ils savent l'un et l'autre l'estime que je leur porte.

En témoignage de fidèle amitié.

A NOS CAMARADES
LES DOCTEURS MATRAY, VIEUX ET DECHAMBOUX

Ils nous ont aidé au cours de ce travail. Nous sommes heureux de les remercier ici.

A NOTRE CAMARADE, LE DOCTEUR TIZZANI

Que nous remercions de sa collaboration.

A NOS CAMARADES ET AMIS,
LES DOCTEURS JACQUELINE ET JACQUES BERTHARION,
A. CHEVALLIER, P. BLANC, P. BENSIMON

AU PERSONNEL ET AUX CHERCHEURS
DES LABORATOIRES DE CYTOLOGIE
ET DE CHIMIE HÉMATOLOGIQUE
DE L'INSTITUT PASTEUR DE LYON

A LA SOEUR MÈRE
A SOEUR LAVIGNE
AUX SOEURS DU SERVICE

Cette étude a été entreprise il y a deux ans, sous la direction et le contrôle de Monsieur le Professeur Agrégé R. CREYSSEL, qui en a surveillé l'élaboration avec une patience inlassable.

Ce travail représente une œuvre commune. La virtuosité cytologique du Docteur MOREL a assuré le fondement hématologique de nos observations, tandis que le Docteur MATRAY introduisait au laboratoire, avec Mademoiselle CILLE, les techniques d'étude et de dosage chromatographiques des acides aminés.

Les recherches suivantes ont été réalisées grâce à l'activité méticuleuse de Mlle PICHAT et de Mlle COUTURIER.

Nous leur exprimons toute notre gratitude, et nous voulons remercier ici tous ceux qui nous ont aidé.



INTRODUCTION - HISTORIQUE

Les modifications biologiques dues au myélome multiple ont suscité de très nombreux travaux, depuis la description que fit BENCE JONES, en 1848, d'une protéine urinaire thermosoluble.

La première description anatomique et clinique a été faite par Mc INTYRE sous le nom de « Mollities Ossium », avant que RUSTITSKY, élève de Von RECKLINHAUSEN, ne lui donne le nom de myélome multiple, en 1873.

En 1889, E. KAHLER, poursuivant durant 8 ans l'observation d'un de ses malades, et s'appuyant sur les cas de myélomes multiples rapportés par ZAHN, donna à cette maladie son autonomie clinique et anatomo-pathologique.

Si nette fut sa description, que BOZZOLO, en 1897, propose de désigner cette entité nouvelle sous le nom de MALADIE de KAHLER.

L'anatomie pathologique, puis la radiologie et l'hématologie en furent bientôt précisées, pendant que ELLINGER, en 1899, décrivait l'hyperprotidémie, et que MAGNUS LÉVY, en 1900, publiait l'étude chimique du sang et des urines d'un malade de NAUNYN, montrant les propriétés de l'albumose de Bence Jones, qu'il réussit à cristalliser.

En 1903, DECHAUME, dans sa thèse, effectuait l'analyse de cette albumose sous la direction de HUGOUNENQ, et l'année suivante, H. BERTOYE publiait une étude complète de la maladie de Bence Jones.

On s'aperçoit alors que la maladie de Kähler ne s'accompagne pas forcément d'albumosurie. Par contre, GESCHICKTER, en 1928, relate seulement 5 cas sans protéinurie, dans une statistique étudiant les lésions rénales de 150 malades.

1931, 1932, MAGNUS LÉVY fait le point des perturbations biochimiques observées dans la myéломatoïse, et quelques années après, met en lumière les rapports existant entre la prolifération plasmocytaire médullaire, et les anomalies protéiques des myélomes.

HOWE, utilisant les méthodes de relargage par des solutions de sels neutres diversement concentrées, avait observé que l'hyperprotidémie était en fait une hyperglobulinémie. Mais TISELIUS, introduisant les techniques de séparation électrophorétiques, permit à de très nombreux auteurs, de préciser quelle fraction globulinique était en excès.

L'homogénéité de cette protéine anormale, sa mobilité variable d'un malade à l'autre, et rarement superposable aux vitesses de migration des protéines normales du sérum étudié, conduisent APITZ (1940), à la notion de **paraprotéines**, absentes du sérum d'un sujet sain.

L'ultra-centrifugation permet à Mc FARLANE, en 1935, à PEDERSEN, en 1938, de mesurer les constantes de sédimentation des protéines de sérums myélomateux, et à RUNDLES d'affecter à la paraprotéine un poids moléculaire compris entre 140.000 et 160.000.

En 1944, WALDENSTROM détache du cadre des paraprotéinémies un nouveau groupe, dont l'originalité biochimique est due à la présence dans le sang d'une « macroglobuline », (poids moléculaire sensiblement égal à 1 million), associé à un syndrome hémorragique. L'électrophorèse des protéines sériques de malades de ce groupe offre un tracé exactement superposable aux courbes provenant de sérums myélomateux.

DI GUGLIELMO, en 1955, en a relevé 53 cas dans la littérature depuis la publication de Waldenstrom.

Il semble donc que les paraprotéines sanguines puissent avoir une autre origine que la maladie de Kahler.

Cet aperçu des travaux consacrés au myélome multiple et aux paraprotéinémies, montre tout l'intérêt de l'étude des protéines sériques et urinaires au moyen de l'électrophorèse, et de l'ultra-centrifugation.

Nous envisagerons donc au cours de ce travail, après la description des techniques d'analyse mises en œuvre, l'étude des observations dont nous avons disposé, puis nous essaierons de systématiser les perturbations sériques et urinaires que nous avons relevées.

CHAPITRE PREMIER

Les techniques utilisées

Nous décrirons ici les techniques employées pour l'étude des sérums et des urines qui nous ont été confiés. Nous préciserons les conditions opératoires après un bref rappel théorique et indiquerons les valeurs obtenues par l'examen du sujet normal.

I. — L'ÉLECTROPHORÈSE

Le principe. — L'électrophorèse est basée sur le fait que des groupements ionisés en solutions, se déplacent, entre une électrode positive et une électrode négative, dans un sens déterminé par leur charge électrique. On peut réaliser une séparation parfaite de deux ions. En présence d'une solution complexe, on obtiendra un échelonnement des différents ions suivant leur mobilité dans l'espace qui sépare les électrodes. Les protéines se comportent, dans des conditions de pH du milieu solvant bien définies, comme des particules chargées de même signe. Elles se déplacent entre les électrodes avec une vitesse fonction des dimensions, de la forme et de la charge des molécules qui les constituent.

Avec un pH déterminé, et en établissant entre les électrodes une différence de potentiel électrique constante pendant un temps suffisant, les protéines d'un sérum se déplaceront toutes dans le même sens, mais avec des vitesses différentes.

L'identification des diverses fractions protéiques s'effectue suivant deux procédés : l'électrophorèse en cuve ou électrophorèse libre, et l'électrophorèse sur papier ou électrophorèse de zone.

A. L'électrophorèse en cuve.

L'appareil utilisé est pratiquement constitué par un tube en « U » partiellement rempli de la solution protéique à examiner, surmontée de solution tampon dans laquelle plongent les électrodes. Au bout d'un temps suffisant les différents constituants du mélange forment autant de couches superposées possédant un indice de réfraction propre. L'observation de cet indice permet de définir la position et la concentration de la fraction étudiée.

Les électrophorèses en cuve que nous rapportons ont été pratiquées dans les conditions suivantes (*) :

L'appareil utilisé est le « Focal F » fabriqué par STRUBIN and C°.

Tampon véronal à pH 8,6. Force ionique : 0,1.

Température : + 3°C.

Inclinaison de la fente oblique : 45°.

Intensité : 20 mA.

Tension : 250 volts.

Gradient de potentiel : 8,2 volts-cm.

Durée de l'expérience : 10 à 13.000 secondes.

B. L'électrophorèse sur papier.

Une bande de papier filtre imbibée de solution tampon est tendue entre deux bacs remplis de cette même solution. Dans chaque bac plonge une électrode. On dispose une micro-goutte en un point de la bande. On applique aux électrodes un courant continu de tension constante.

La bande de papier sert de support au déplacement des protéines.

Au bout d'un temps plus au moins long, la bande est retirée, séchée à l'étuve et colorée. On relève une série de taches correspondant à la position des différentes fractions.

La concentration des diverses protéines est évaluée par photométrie directe de ces taches.

Nous avons utilisé l'appareil Elphor « H » de BENDER et HOBEIN, dans les conditions suivantes :

Etude des protéines sériques :

Papier utilisé, pour la migration : SCHLEICHER et SCHULL n° 2043a ou WHATMAN n° 1.

(*) Nous tenons à remercier Monsieur S. DE MENDE, du Centre National de la Recherche Scientifique, qui a pratiqué ces examens pour nos malades.

Tampon de DURRUM au véronal sodique de pH 8,6 et force ionique 0,1. Dépôt de 10 mm³ de sérum sur la ligne de départ repérée près de la cathode.

Durée de passage du courant : 6 heures.

Coloration par l'amido-Schwartz 10 B.

Décoloration par lavages successifs à l'alcool méthylique, acide acétique.

Photométrie directe de la bande imprégnée d' α bromobenzène et translucide.

Les courbes d'électrophorèse sont décomposées en courbes de GAUSS et planimétrées.

Les valeurs obtenues chez le sujet normal sont (exprimées en pourcentage des protéines totales) :

Pour ARDRY :

A	α_1	α_2	β	γ
61 $\pm$ 3	5 $\pm$ 2	7,5 $\pm$ 2	12,5 $\pm$ 2	14 $\pm$ 2

Pour TIZZANI :

Adulte 30 ans :

56,6 $\pm$ 3,3	3,8 $\pm$ 0,7	7,8 $\pm$ 1,3	12,5 $\pm$ 1,4	19 $\pm$ 8,8
----------------	---------------	---------------	----------------	--------------

Adulte 50 ans :

54,3 $\pm$ 3,5	3,8 $\pm$ 0,8	8 $\pm$ 1,5	13,8 $\pm$ 1,9	20,1 $\pm$ 2,3
----------------	---------------	-------------	----------------	----------------

Etude des lipoprotéines :

Les conditions générales sont identiques. Le dépôt du sérum est de 40 mm³. Nous avons recherché la technique offrant la coloration la plus intense avec un colorant stable, de bonne conservation.

Le rouge cérol en solution alcoolique glycérinée offrait un contraste très faible après une coloration prolongée.

Le mélange préconisé par WURDERLY : Noir cérol, Bleu BLZ CIBA en solution alcoolique sodée, a été abandonné pour sa mauvaise conservation.

Le même mélange en solution alcoolique, contenant 2,5 % de phénol est de bonne conservation et donne un excellent contraste.

Nous nous sommes fixé à la technique décrite par SWAHN usant du noir cérol en solution saturée dans l'alcool à 50 %.

Coloration en 60 minutes environ.

Lavage à l'alcool éthylique à 50°.

L'action, la vitesse de coloration et la spécificité de ces colorants a été vérifiée dans chaque cas sur des préparations histologiques, par notre camarade et ami A. PFISTER (*).

Les glucoprotéines.

Les conditions générales d'électrophorèse sont les mêmes.
Dépôt de 40 mm³ de sérum.

Nous avons utilisé avec les mêmes résultats les techniques suivantes, variantes d'un même principe .

— Oxydation par l'acide périodique des polysaccharides du sérum jusqu'au stade aldéhyde, puis recoloration du réactif de SCHIFF avec ces groupes aldéhydes.

La technique décrite par PASQUET nous a donné de bons résultats :

— Lavage à l'alcool méthylique acétone de la bande séchée à l'étuve.

— Rincer à l'alcool méthylique pur.

— Oxydation par l'acide périodique en solution à 5 % dans l'alcool méthylique.

— Lavage prolongé à l'eau distillée.

— Coloration par la fuschine décolorée par le bisulfite de Na (Fuschine 1 g. H₂O, 200 cm³, ébullition, filtration).

— Lavage à l'eau sulfureuse prolongé.

TIZZANI a donné le mode opératoire suivant :

Réactifs : Fuschine basique 2 g.

Eau distillée bouillante 400 cm³.

Refroidir.

Ajouter HCl 2N 10 cm³.

Métabisulfite 4 g.

Boucher. Placer à la glacière une nuit.

Ajouter 1 g. de charbon activé pulvérisé.

Mélanger et filtrer.

Ajouter HCl 2N 30 cm³.

Conservation à la glacière une nuit. Ajouter un volume égal d'alcool pur au moment de l'emploi.

(*) Ces vérifications ont été exposées dans sa thèse : Dégénérescence du ganglion sympathique déconnecté. Lyon, 1955. Nous lui exprimons ici toute notre amicale reconnaissance.

Technique : Lavage des bandes de papier à l'alcool pur.

Oxydation par l'acide périodique à 5 %.

Rincer à l'alcool à 70 %.

Coloration par la fuschine.

Lavage à l'eau sulfitée. Passer dans trois bains d'alcool pur. Essorer entre des feuilles de papier Joseph.

La photométrie est possible. Nous ne l'avons pas pratiquée les modifications observées étant évidentes à l'inspection de la bande.

II. — L'ULTRA-CENTRIFUGATION

La séparation des particules suspendues dans un milieu liquide, soumis à une force centrifuge est fonction du volume et de la densité de chaque particule, de la densité de la solution, de la vitesse angulaire, et de la distance séparant le centre de la particule (SVEDBERG).

En pratique on dispose d'un rotor entraîné par une turbine à air ou à huile, pour des vitesses très élevées ou par un moteur électrique pour des vitesses plus faibles. Ce rotor comporte deux cellules diamétralement opposées remplies de liquide à centrifuger. L'observation de la sédimentation des particules en solution s'effectue avec un appareillage optique. On peut ainsi déceler les variations d'indices de réfraction des couches de particules superposées et affecter à chacune, une constante de sédimentation.

Cette constante est fonction :

— de la viscosité du milieu à $t^{\circ}\text{C}$:	nt
— de la viscosité du solvant de référence à $t^{\circ}\text{C}$, t étant la température d'expérience :	$n^{\circ}t$
— de la viscosité du solvant de référence à 20°C :	n°_{20}
— de la densité du milieu à $t^{\circ}\text{C}$:	rt
— de la densité du solvant de référence à 20°C :	r°_{20}
— du volume spécifique partiel de la macro-molécule dans le milieu étudié à $t^{\circ}\text{C}$:	Vt
— du volume spécifique partiel de la macro-molécule dans le même milieu à 20°C :	V_{20}

On peut déterminer la constante « S » pour une température uniforme de 20° avec la formule :

$$S_{20} = S_t \frac{nt}{n^{\circ}_{20}} \frac{1 - V_{20}r^{\circ}_{20}}{1 - V_trt}.$$

Les ultra-centrifugations que nous rapportons ont été pratiquées dans les conditions suivantes (*) :

Pour le sérum :

- Concentration 1/4.
- Tampon véronal pH 8,6.
- Vitesse de rotation en régime : 59 780 tours/minute.
- Durée de démarrage de 5 à 8 minutes.
- Température d'expérience de 17 à 20°C.
- Épaisseur de la cellule : 3 mm.
- Inclinaison de la barre : 45°.
- Temps de pose : 1 seconde avec écran LP.
20 à 30 secondes sans écran.

Pour les urines :

Conditions identiques sauf : concentration 1/1.
Épaisseur de la cellule 12 mm.

Valeurs normales :

Cette méthode permet de déceler dans un sérum normal, pris pour exemple, 3 constituants de constantes respectives :

$$1) S_{20} = 3,3 \quad 2) S_{20} = 5 \quad 3) S_{20} = 12,4$$

ARDRY dans un article récent relève 3 constituants : A et G dont la constante de sédimentation est égale à $4,5 \cdot 10^{-13}$ représente les albumines de poids moléculaire 65-70.000 accompagnés par le constituant X de constante très voisine. G moins abondant que A, mais plus que X, correspond aux globulines de P.M. = 160.000 avec une constante de $7,1 \cdot 10^{-13}$. Il relève l'existence normale de globulines lourdes à poids moléculaire élevé, de constante $S_{20} = 18,5$ à 20, comprenant en particulier les lipoprotéines.

III. — DOSAGE DE L'AZOTE AMINÉ URINAIRE

Ce dosage est effectué suivant la technique classique de FOLIN, dont le principe est le suivant :

L'urine est préparée par passage sur permutite 50 — comme pour une chromatographie (voir paragraphe suivant). L'éluat,

(*) Nous tenons à remercier et à exprimer notre gratitude à Monsieur NAVIER, du C.N.R.S., qui a effectué ces examens pour les sérums de nos malades.

concentré et repris par l'eau distillée, contient les acides aminés libres, que l'on condense avec de l'acide naphtoquinone sulfonique. Il se forme un complexe de couleur jaune, stable après addition d'hyposulfite en milieu légèrement acide, alors que l'acide naphtoquinone sulfonique pur se décolore dans les mêmes conditions.

On mesure l'intensité de coloration obtenue au spectrophotomètre, puis on la compare à la coloration donnée par la solution étalon de glyocolle dosée de la même façon et contenant 7 mg. d'azote aminé par litre de solution — soit 32,5 mg. de glyocolle par litre dosé.

IV. — CHROMATOGRAPHIE DES ACIDES AMINÉS URINAIRES

L'analyse quantitative des acides aminés éliminés dans les urines a été effectuée suivant les principes de la chromatographie sur papier en deux dimensions ; la place de chaque acide aminé est révélée sur la feuille de papier par la coloration bleue due à la pulvérisation de ninhydrine. Nous avons suivi cette technique.

A. Préparation des urines.

a) Acidification des urines par quelques gouttes d'acide sulfurique et filtration sur papier.

b) Passage de l'urine sur une colonne échangeuse d'ions (permutite 50). Débit : 10 à 15 gouttes/minute.

Laver la colonne avec 500 cm³ d'H₂O.

Eluer avec 140 cm³ de NH₄OH.N.

c) Concentrer l'ensemble recueilli par distillation sous vide jusqu'à 10 à 15 cm³ ; puis évaporer à sec sous vide en présence de SO₄H₂ et CaCl₂.

d) Reprendre par l'eau distillée : 2 cm³.

B. Chromatographie.

Placer dans l'angle supérieur gauche de la feuille de papier 20 mm³ de concentré obtenu.

Equilibrer le papier dans la cuve à butanol et placer le butanol (butanol RP : 120 cm³, Acide acétique : 30 cm³, H₂O : 150 cm³, mélanger, décantier et utiliser la couche supérieure).

Laisser 24 à 36 heures, suivant le papier utilisé. Retirer la feuille. Laisser 1 jour.

Placer la feuille de papier dans la cuve à phénol ; équilibrer ($0,5 \text{ cm}^3 \text{ NH}_3$) et mettre le phénol saturé d'eau.

Chromatographie 40 heures. Laisser sécher deux jours.

C. Révélation.

Avec le mélange : Ninhydrine 80 mg. en solution dans 40 cm^3 d'acétone additionné de $0,4 \text{ cm}^3$ d'acide acétique, qui est pulvérisé sur le chromatogramme séché.

D. Le chromatogramme normal.

Il est discuté. On admet généralement le schéma suivant (BIZERTE-DUBUISSON) :

Chez l'adulte, on note la présence abondante de glycolle et des acides aminés non essentiels en quantité notable.

Par ailleurs, l'absence ou la très faible concentration d'acides aminés soufrés, de la proline, de la tyrosine, de l'asparagine et des acides aminés à longue chaîne.

V. — ANALYSE DE LA PROTÉINE DE BENGE JONES

A. Isolement.

Nous nous sommes basé sur son caractère capital de thermosolubilité pour isoler la protéine de BENGE JONES.

Les protéines urinaires banales sont coagulées par ébullition et le mélange filtré à chaud. Seule soluble, la protéine de BENGE JONES passe le filtre et est recueillie. Nous ne récoltons pas de cette façon la totalité de la protéine présente dans les urines traitées. Des taux urinaires suffisants permettent seuls des purifications successives.

La protéine de BENGE JONES précipite en refroidissant. Ce précipité, lavé, centrifugé, est lavé à l'alcool pur à plusieurs reprises, centrifugé, lavé à l'éther et enfin desséché sous vide.

B. Hydrolyse.

Le précipité de protéine de BENGE JONES est hydrolysé par la technique classique de l'hydrolyse acide, avec HCl 5,5 N.

L'hydrolysate est repris, et distillé sous vide pour éliminer l'acide chlorhydrique. On pratique 3 distillations successives en reprenant chaque fois par l'eau désionisée. On termine par une dessiccation sous la cloche à vide.

C. Chromatographie.

Le résidu sec provenant de la dernière distillation est repris par 50 cm³ d'eau distillée, et soumis à la chromatographie de partage sur papier suivant la technique décrite à propos des acides aminés urinaires (page 25).

D. Dosage des acides aminés.

après chromatographie de partage.

Nous avons suivi la technique précisée par MONTREUIL et KHOUVINE, dont voici le principe :

On sépare les acides aminés par chromatographie en une seule dimension, choisissant un solvant (Butanol ou phénol) donnant la meilleure séparation des acides aminés recherchés.

Après séchage complet, les acides aminés sont révélés par la ninhydrine en solution dans l'acétone acétique.

On laisse se développer la coloration plusieurs heures à la température ordinaire, puis on la termine par passage à l'étuve pendant quelques heures.

Les spots correspondant à l'acide aminé étudié sont découpés individuellement, et soumis à l'élution.

Pour l'élution, on plonge chaque rondelle de papier supportant un spot, dans un tube contenant 0,5 cm³ de Cl₂Cd (à 0,1 %, dans l'alcool méthylique à 40 % d'eau).

Il se forme un complexe de coloration rouge. On complète à 5 cm³ avec l'alcool méthylique aqueux, et on lit l'intensité de coloration au spectrophotomètre.

On effectue, d'autre part, une gamme de coloration avec des quantités connues d'un acide aminé pur traité de la même façon, et on compare les colorations obtenues.

La méthionine, étant donné sa faible concentration dans la protéine de Bence Jones, a été dosée par méthode microbiologique, avec leuconostoc méésentéroïdes (*).

(*) Nous remercions Madame KARLIN, de l'Institut Pasteur de Lyon, qui a effectué ces dosages et en a autorisé la publication.



CHAPITRE II

Observations

C'est en pratiquant les examens demandés au laboratoire par différents services des Hôpitaux de Lyon, et de la région (*), et par le service de M. le Professeur CROIZAT, que nous avons décelé, après électrophorèse sur papier, des anomalies protéiques pouvant faire discuter le myélome multiple ou les dysglobulinémies.

Ce sont les aspects pathologiques de ces protéines qui nous ont engagé chaque fois à compléter le bilan biologique déjà effectué.

Le tableau suivant, qui résume les caractères particuliers de chacune d'elles, groupe l'ensemble de nos observations, comprenant :

36 Myélomes vrais, 3 Dysglobulinémies malignes hémorragiques, 2 Affections discutables.

D'autres tableaux détailleront au moment de leur étude les données fournies par l'examen des protéines sériques et urinaires au moyen de l'électrophorèse sur papier et en cuve, de l'ultra-centrifugation, et de l'analyse chromatographique des acides aminés urinaires.

Dans ce tableau, nous avons voulu mettre en évidence l'essentiel des éléments qui ont basé le diagnostic.

Par « **anomalie prédominante du sérum et de l'urine** », nous entendons le pic électrophorétique anormal du sérum, désigné par β ou γ selon sa position apparente ; et, lorsque nous en avons eu connaissance, l'existence ou non **de protéines urinaires : (P.T.)**, la présence ou l'absence de **protéines de Bence Jones : (B.J.)**.

(*) Nous voulons remercier ici Messieurs les Professeurs DELORE, FROMENT, LEVRAT, P. RAVALT ; MM. les Professeurs Agrégés Marcel GIRARD, REVOL, VIGNON ; M. le Médecin-Colonel CAMELIN, Professeur Agrégé du Val-de-Grâce ; M. le Médecin-Commandant FAVIER, Spécialiste des Hôpitaux Militaires ; les Docteurs MADONNA, GROULADE, LÉGER, DUVAL, qui ont bien voulu nous confier l'examen des humeurs de leurs malades, et dont l'obligeance nous a permis d'étendre le champ de nos observations.

N ^o d'ordre	Nom	Aspect radiologique et clinique	Myélogramme	Sérum	Anomalie prédominante Urine	Observations
1	Mme All. Dr Léger, Bourg	Atteinte du crâne et du squelette	Envahissement plasmocyttaire	γ	Protéines	
2	Mme Ann., 50 ans N ^o 67 Sec du Pr Delore	Lyse localisée aux arcs post., C2 et C3. Algies erratiques fugaces	Envahissement total plasmoblastique	γ γ	P.T. 8 ‰ B.J. 8 ‰	
3	M. Arg., 55 ans 9952 XIX Hbis	Lyse totale de L4. Crâne : décalcification	85 % plasmocytes	γ	P.T. 12 ‰	Syndrome hémolytique surajouté
4	M. Bour., 31 ans 9808 Hbis	Pleurodynie Névralgie sciatique	Plasmocytes et plasmoblastes. Quelques paramyéloblastes	γ	B.J. 12 ‰	
5	M. Boug., Dijon	Squelette normal. Syndrome hémorragique	Plasmocytes anormaux groupés en amas	γ	B.J.	Cryogélification du sérum
6	Mme Bru.		Réticuloplasmocytes et éléments de la trame endothéliale	γ	—	
7	M. Buff.	Tuméfactions osseuses multiples Géodes radiologiques	45 % de plasmocytes myélomateux groupés en amas	γ	—	
8	Mme Cha., 81 ans N ^o 180 Sec du Dr Vignon	Lombalgies. Atteintes multiples du squelette	21 % de plasmocytes de type myélomateux	β	Protéines 2,9 ‰	
9	M. Cost., 51 ans H.M.I.D., Sec. du Méd. Cdt Favier	Lombalgies Squelette : Ostéoporose	Infiltration modérée de plasmocytes nets	β	Protéines 0,5 ‰	

N° d'ordre	Nom	Aspect radiologique et clinique	Myélogramme	Anomalie prédominante Sérum	Urine	Observations
10	Mme Deh., 47 ans 9605 Hbis	Algies sciatiques. Im- ages lacunaires douteu- ses aile iliaque gauche	Envahissement par des plasmocytes myéloma- teux	—	Protéines 2 ‰	
11	Mme Dir., 57 ans 9560 III Hbis	Algies scapulaires gau- ches	12 ‰ de plasmocytes	γ	Protéines 0,4 ‰	Diagnostic d'infarctus du myocarde à l'entrée
12	Mme Fav., 66 ans 10932 Sce du Pr Levrat	Pas de douleurs osseu- ses ni d'atteinte radio- logique du squelette	Désertique, 81 ‰ d'élé- ments lymphocytaires atypiques	γ	Pas de protéines	Syndrôme hémorragi- que associé. Fond d'œil : aspect de leucémie myéloïde
13	M. Gon., Montceau-les-Mines			β	—	
14	M. Gou., 10499 Sce du Pr P. Ravault	Adénopathies général. Lacunes discutables du col fémoral droit	45 ‰ de plasmocytes	γ	Pas de B.J.	Hépto-splénomégalie. Diagnostic de réticulose aiguë à l'examen de la ponction ganglionnaire.
15	Mlle Gran., 21 ans 52 Sce du Dr Vignon	Arthralgies. Raideur cervicale	Grosse participation réticulaire endothéliale Plasmoc. non tumoraux	β	Pas de protéines	Il s'agit cliniquement d'une polyarthrite chro- nique évolutive
16	M. Gri. Sce du Pr M. Girard		Envahissement subtotal de plasmocytes myélo- mateux	γ		
17	M. Jos., 66 ans 9185 XIX Hbis	Fractures spontanées Lyse vertébrale : D6	Envahissement total par des plasmocytes myélomateux	γ	Pas de protéines	
18	Mme Lab., 59 ans 9420 XIX Hbis	Images rachidiennes typiques de myélome		β	Protéines 0,10 ‰	

N° d'ordre	Nom	Aspect radiologique et clinique	Myélogramme	Sérum	Anomalie prédominante	Observations
19	Mme Mag., 50 ans 9925 Hbis	Tuméfactions osseuses. Images en géodes du squelette	80 % de plasmoblastes myélomateux typiques	γ	Protéines totales 20 ‰ B.J. 7 ‰	
20	M. Mar., 58 ans 1023 XIX Hbis	Arthralgies. Squelette radiologiquement nor- mal	31 % d'endothélio- plasmocytes, 11 % de plasmocytes	γ	P.T. 8 ‰ B.J. 6,8 ‰	A l'entrée, azotémie à 3 gr.
21	M. Marq., 50 ans 4795 XIV Hbis	Douleurs osseuses. Adé- nopathies sus-clavicu- laires	57 % d'éléments jeunes leucoblastiques	γ	Pas de protéines	Hépatosplénomégalie considérable. Grosse ré- action plasmocytaire à l'examen de la ponc- tion ganglionnaire
22	M. Mat., 55 ans 3848 See du Pr Froment	Rachialgies. Images géodiques du crâne	Cellules myélomateuses typiques à tous les sta- des d'évolution	γ	P.T. 13 ‰	Traumatisme initial du rachis
23	M. Mic. Dr Madonna	Ostéoporose générali- sée sans géodes		γ	Protéinurie	
24	M. Mich., 58 ans Hbis	Adénopathies et splénomégalie	27 % de plasmocytes 40 % de plasmoblastes	γ	P.T. 8,5 ‰ Pas de B.J.	
25	Mme Mil., 43 ans 10139 XIX Hbis	Algies erratiques fuga- ces. Images lacunaires crâniennes et costales	Envahissement par des cellules plasmoblasti- ques	γ	Protéinurie sans B.J.	Traumatisme initial du thorax
26	M. Mir. 10529 See du Pr P. Ravault	Lombalgies Ecrasement de D11	Nappes de plasmocytes myélomateux	γ	Pas de protéinurie	

<i>N° d'ordre</i>	<i>Nom</i>	<i>Aspect radiologique et clinique</i>	<i>Myélogramme</i>	<i>Anomalie prédominante</i> <i>Sérum</i> <i>Urine</i>	<i>Observations</i>
27	Mme Odi., 68 ans 12022 Sec du Pr Levrat	Lombalgies. Images géodiques multiples du squelette	Envassement par des éléments plasmocytaires de type myéломат.	β	
28	Mme Ple., 68 ans 10728 XIX Hbis	Coma urémique à l'entree. Radios crâniennes: géodes caractéristiques	32 % de plasmocytes myéломатeux	β P.T. avec B.J.	
29	Mme Rev., 39 ans Hbis 1954	Anémie. Splénomégalie. Lésions osseuses géodiques caractéristiques	Éléments érythroblastiques atypiques et réticulo-plasmocytaires	γ P.T. 1 % Pas de B.J.	Erythroblastose atypique évoluant avec un stade intermédiaire érythroplasmocytaire, vers la leucoblastose terminale
30	M. Roy. Dr Léger, Bourg			γ Protéinurie	
31	M. Sal., 63 ans Sec du Pr Levrat	Algies multiples. Crâne: images lacunaires typiques	Ilots de plasmocytes myéломатeux	γ Protéinurie	
32	M. Sid. 8306 Sec du Pr P. Ravault	Lombalgies. Décalcification vertébrale, et lyse de L1	Plasmocytose modérée n'évoquant pas le myéломат	γ —	
33	M. Terr., 67 ans Dr Revol	Syndrome hémorragique; pas de lésion osseuse	N'évoque pas le myéломат; quelques plasmocytes anormaux	γ Pas de protéines	On relève dans les antécédents une polyarthrite chronique évolutive atypique

N° d'ordre	Nom	Aspect radiologique et clinique	Myélogramme	Sérum	Anomalie prédominante	Observations
					Urine	
34	M. The., 57 ans H.M.I.D., Sec du Méd. Cl. Camelin N° 240, 1954	Ostéolyse vertébrale ; géodes caractéristiques du crâne et du bassin	13 % de plasmocytes de type myélomateux	γ	P.T. 19 ‰ Pas de B.J.	Evolution en 3 ans sans avoir jamais présenté de Bence-Jones
35	M. Via., 61 ans 10578 XIX Hbis	Lombalgies ; adénopap- thies inguinales	Très nombreux plasmoc- ytes de type myélo- mateux	β	B.J. 13 ‰	
36	Mme Ché., 46 ans Grenoble Sec du Dr Calas	Fracture pathologique ; géodes osseuses	17 % de plasmocytes	γ	P.T. 0,53 ‰	
37	M. Sal., 60 ans Sec du Dr Flandrin, Grenoble	Anémie modérée. Pas de lésion du squelette	Moelle normale	γ	—	
38	Mme Ros., 60 ans Drs Raynaud et Angueloff, Chambéry	Algies fugaces et erra- tiques. Géodes cranien- nes caractéristiques		γ	P.T. 27 ‰ avec B.J.	
39	Mme Mal., 50 ans Dr Groulade, Grenoble	Lyse de L5	40 % de plasmocytes jeunes et sécrétoires	γ	P.T. 9 ‰ sans B.J.	
40	Mme Riv., Dr Duval, St-Etienne		Plasmocytose impor- tante	γ	Pas de protéines	
41	M. Dub., 76 ans Sec du Dr Levrat	Atteintes osseuses mul- tiples	80 % de réticulo-plas- moblastes	γ	Pas de protéines	Tuméfactions sterno- claviculaires

COMMENTAIRES

La critique détaillée des observations litigieuses sera faite lorsque nous aurons établi les caractères généraux des examens pratiqués. Nous envisagerons seulement dans ce paragraphe comment situer la maladie de KAHLER, et les dysglobulinémies, maladies réputées rares, dans le cadre des hémopathies malignes et quelles constatations évidentes se dégagent de l'ensemble des anomalies sériques et urinaires.

I. — Fréquence de la myélomatose.

HAYES en 1952, recueille 182 cas de myélomes multiples publiés depuis 1892. Mais il ne s'agit là que des cas ayant été soumis à l'autopsie.

Madame LEHMANN, dans sa thèse (1949), a étudié 208 observations d'atteinte rénale dans la myélomatose.

WUHRMANN en 1949, étudie une série statistique de 60 cas et RUNDLES en obtient 24 cas.

DI GUGLIELMO fonde son étude du plasmocytome sur 55 cas, suivis entre 1947 et 1954.

A la clinique MAYO, BAYRD a observé 28 myélomes de 1939 à 1944 et 34 en 1945 et 1946.

Aux U.S.A., le plasmocytome représente 16 % des tumeurs du S.R.E. et du tissu lymphatique (Statistiques sur les causes de mortalité en 1949 dépouillées par GILLIAM).

La maladie de HODGKIN, et les leucémies sont deux fois plus fréquentes que la maladie de KAHLER, d'après AINLEY (Belfast-Hospital).

Depuis 1953, nous avons étudié le sérum de 41 malades. Or du 15 Septembre 1954 au 18 Octobre 1955, il a été pratiqué 2.100 électrophorèses au laboratoire.

D'autre part, notre camarade et ami VIEUX rapporte, dans sa thèse, 173 examens électrophorétiques d'hémopathies malignes pratiquées depuis 1953, comprenant essentiellement 46 lymphogranulomatoses malignes, 30 leucoses aiguës, 25 lymphoses, 24 myélomes, 20 réticulopathies.

Il nous est, bien sûr, interdit de comparer la fréquence du myélome multiple à la fréquence générale de la leucose aiguë ou de la lymphogranulomatose dont le sérum n'est pas étudié systématiquement. Mais il semble quand même, d'accord en cela avec les statistiques de BAYRD et AINLEY, que la maladie de KAHLER soit beaucoup plus fréquente qu'il n'est classique de le dire.

II. — Les anomalies électrophorétiques des sérums myélomateux.

Si le plus souvent c'est l'examen électrophorétique des protéines sériques qui a révélé une anomalie orientant vers la maladie de KAHLER, le myélogramme avait quelquefois suggéré le diagnostic et l'on n'a demandé qu'une confirmation à l'électrophorèse.

On retrouve un tracé typique de myélomatose après électrophorèse sur papier pour 37 sérums. Les tracés discutables des observations n^{os} 7, 19 et 32, correspondent pourtant à 3 plasmocytomes établis par la clinique, la radiologie et le myélogramme.

L'observation n^o 10 dont le médullogramme montrait un envahissement par des plasmocytes sécrétoires de type myélomateux offrait un tracé peu perturbé.

L'électrophorèse n'est donc que rarement en défaut ; un tracé du type rencontré dans le myélome est un argument extrêmement fort dans la discussion du diagnostic.

III. — Protéinuries.

Nous avons vérifié que les urines de nos malades ont été analysées dans 33 observations. Nous détaillerons plus loin les caractères de ces protéines, mais nous notons déjà la présence de 9 protéines de BENCES JONES, isolées dans 3 cas, associées à des protéines banales dans 6 cas, 27 malades présentant une protéinurie sans albumosurie.

Dans ces cas, l'électrophorèse a révélé deux globulinuries isolées.

Si l'étude des protéines sériques pouvait offrir un critère de diagnostic, l'examen des protéines urinaires semble souvent d'un intérêt complémentaire.

CHAPITRE III

Étude des protéines sériques

Dans la première partie de ce chapitre, un tableau synoptique concentrera les valeurs déterminées pour les protéines sériques après électrophorèse libre et sur papier. Nous étudierons particulièrement la mobilité et la forme de la paraprotéine mise en évidence avec ces méthodes.

L'ultra-centrifugation fera l'objet de la deuxième partie de ce chapitre, nous permettant de subdiviser les dysprotéïnémies, ensemble homogène vis-à-vis de l'électrophorèse.

Nous évoquerons enfin les examens immuno-chimiques.

I. — L'HYPERPROTÉINÉMIE

Depuis 1928 (PERLZWEIG) cette notion est bien connue et de nombreux auteurs l'ont mise en évidence ; en particulier MAGNUS-LÉVY en 1936, qui la retrouve dans 50 % des cas, alors que BAYRD et HECK la constatent 73 fois sur 100.

DI GUGLIELMO dans sa statistique note que 83,3 % de ses malades sont hyperprotidémiques.

La concentration des protéines peut être considérable : 230 g. par litre dans le cas de SCHUMACHER et coll., bien que le taux habituel oscille entre 120 et 130 g. par litre.

La valeur des protéines totales déterminée dans le sérum de nos malades oscille autour de 90 %₀₀ ; 3 seulement ont une protidémie normale et le taux le plus élevé est de 134 g. par litre.

II. — L'ÉLECTROPHORÈSE

Les documents ne manquent pas, qui décrivent le comportement électrophorétique de la maladie de KAHLER. Nous résumerons simplement les constatations principales de quelques auteurs avant de présenter et de commenter nos observations.

A. L'ÉLECTROPHORÈSE EN CUVE

Le tracé est modifié selon le schéma général suivant, qui est classique.

L'albumine est notablement diminuée, surtout si on l'envisage en pourcentage des protéines totales. En tenant compte de l'hyperprotidémie, et en calculant le poids d'albumine effectivement présent par litre de sérum, on peut retrouver un taux sensiblement normal.

Mais on est frappé par l'apparition d'un pic globulinique considérable, à base étroite, assez semblable quant à la forme au pic albuminique. Si son importance est couramment considérable (60 à 70 % des protéines totales), sa position varie avec le sérum de chaque malade.

MARTIN en 1948, décrivait deux pics, l'un migrant parmi les β -globulines, l'autre se comportant en γ -globuline, cas très fréquent pour tous les auteurs.

Un pic migrant avec les α -globulines fut décrit par LUDIN en 1947 à propos de deux cas.

Cependant KEKWICK, isolant les pics pathologiques, aussi bien β que γ , compare leur mobilité électrophorétique à celle de β et de γ -globulines provenant de sérums normaux et constate que ces mobilités ne sont pas superposables.

La majorité des auteurs préfèrent actuellement, au lieu de parler de myélome β ou γ , parler de myélome dont la protéine anormale est de type β ou γ .

Les pics de mobilité intermédiaire entre β et γ sont appelés suivant les auteurs :

— Onde M par GUTTMANN.

— Onde X par SNAPPER et par OLHAGEN.

— Onde ζ par WIEDERMANN et beaucoup d'autres.

WURTMANN et WUNDERLY, HUGENTOBLE, en 1949 distinguaient 5 types de tracés à propos de 60 cas : normal,

type α_1 , β_1 , β_2 et γ . Le type γ est le plus fréquent dans toutes les statistiques :

60 % des cas de JANSEN.

72,5 % des cas de TEN THIJE.

56 % des 91 cas de RUNDLES et collaborateurs.

Le type β est moins fréquent. STERN et REINER chiffrent son importance à 15,4 % de leurs cas.

Pour WUHRMANN, ce pourcentage s'élève à 41,6 % dans sa statistique de 60 cas.

L'anomalie de type α est plus rare. Ceci peut être partiellement dû au fait que beaucoup ne retiennent pas une élévation des α -globulines, qu'ils n'estiment pas absolument spécifique. Ces cas sont rares : 5,8 % dans la statistique de TEN THIJE, et 20 % pour GRIFFITHS et BREWS.

On peut ainsi voir dans quelques cas (SOULIER) des dysprotidémies portant sur 2 ou plusieurs fractions globuliniques.

Il faut bien noter que dans un certain nombre de maladies de KAHLER authentiques, l'électrophorèse ne révèle aucune anomalie (SELIGMANN et J. BERNARD, TEN THIJE, BAYRD et HECK, et de nombreux auteurs l'ont observé).

B. ÉLECTROPHORÈSE SUR PAPIER

La précision de cette technique est moindre. Une étude précise des mobilités n'est pas possible. On peut cependant obtenir des résultats bien superposables aux données de l'électrophorèse en cuve (ANTONINI et PIVER).

GRIFFITHS et BREWS (1953) ont même subdivisé les myélomes de type γ en 3 variétés suivant leur déplacement par rapport à la ligne de dépôt, WIDERMANN sépare les β -globulines en β_1 et β_2 et en extrapolant, calcule β_3 et γ , donnant ainsi un schéma général, constitué d'albumine suivi de α_1 et α_2 , β_1 , β_2 , β_3 , γ_1 , γ_2 .

Cette méthode offre surtout la possibilité d'étudier électivement les lipoprotéines et les glucoprotéines. Il ne semble pas qu'on ait mis en évidence une relation entre le pic anormal des plasmocytomes et les lipoprotéines (SONNET-OSSERMANN). Cependant SACHS avec l'« Oil-red », puis TERRASSE, ont constaté une légère augmentation des lipides en regard de la protéine normale.

Par contre l'existence d'une fraction glucidique considérable, superposable à la paraprotéine, semble bien établie par RICE, SONNET, SACHS, TROPEANO et DI GUGLIELMO.

C. LES ÉLECTROPHORÈSES DE NOS OBSERVATIONS

Nous indiquerons dans la première partie du tableau en face du numéro de chaque observation les pourcentages déterminés pour chaque fraction protéique après **électrophorèse sur papier** ; puis la place occupée par l'onde principale du lipidogramme et du glucidogramme par rapport au protéinogramme. Enfin par comparaison avec un sérum normal témoin, la mobilité approximative du pic protéique pathologique. β ou γ désigne dans ce cas la globuline du sérum sain, de même vitesse que la paraprotéine.

La deuxième partie du tableau reproduit les données **de l'électrophorèse libre**. Au-dessous des pourcentages obtenus, est indiquée la mobilité de la fraction en cause, exprimée en $\text{cm}^2 \text{ — volt}^{-1} \text{ — sec.}^{-1} \cdot 10^{-5}$.

Dans la colonne σ figure le coefficient de dispersion ou d'hétérogénéité du pic pathologique, c'est-à-dire l'écart type de la courbe de GAUSS, formée par ce pic, défini par le calcul statistique. Plus simplement cette valeur indique, pour un pic de surface donnée, la largeur plus ou moins importante de la base.

La valeur de σ est d'autant plus faible que le pic est plus aigu.

Nous avons utilisé les abréviations suivantes :

P. T. : Protéines totales, exprimées en grammes par litre.

A : Albumine du sérum, exprimée en % des protéines totales.

α, β, γ : Globulines du sérum, exprimées en % des protéines totales.

L : Onde principale du lipidogramme, correspondant aux β lipoprotéines.

G. : Onde principale du glucidogramme.

Path. : Désigne le pic protéique pathologique du sérum étudié.

On a apprécié dans cette colonne, sa position par rapport à un sérum normal témoin.

(Voir tableaux pages 42 et 43).

D. COMMENTAIRES DE CES RÉSULTATS

Electrophorèse en cuve.

Fréquence de l'aspect myélomateux.

L'importance des pics pathologiques est variable, mais l'on est surpris par les observations n^{os} 3 et 20 dont l'électrophorèse est normale.

Par ailleurs quelques pics donnent l'impression de ne pas être homogènes ; certains nettement asymétriques, d'autres évoquent un double clocher (obs. n° 4).

Mobilité de l'onde myélomateuse.

PUTNAM et UDIN ont donné les mobilités des protéines du sérum humain normal d'après COOPER, soit pour l'albumine : $6,1 \pm 0,1$ et pour les globulines :

$$\left. \begin{array}{l} \alpha_1 = 5,0 \pm 0,1 \\ \alpha_2 = 3,9 \pm 0,1 \\ \beta = 3,0 \pm 0,1 \\ \gamma = 1,25 \pm 0,1 \end{array} \right\} \text{ exprimés en cm}^2 \text{ — volt}^{-1} \text{ — sec.}^{-1} \cdot 10^{-5}$$

Les mobilités que nous avons relevées sont présentées dans le schéma d'ensemble suivant, où nos observations figurent en noir. Il nous est bien impossible d'envisager une étude statistique car leur dispersion s'étale de 0,7 à 3,4.

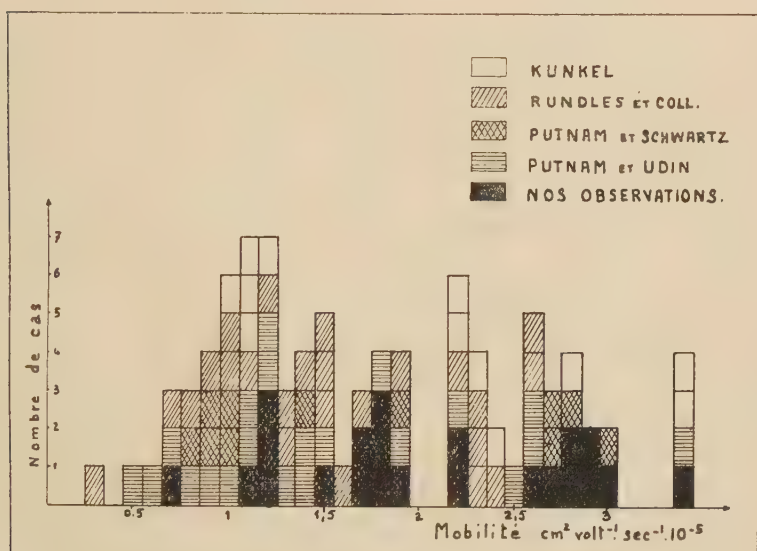


SCHÉMA N° 1.

Sur ce schéma sont réunies les mobilités électrophorétiques de la protéine myélomateuse de 91 sérums recueillis par différents auteurs.

Il n'est pas possible d'affecter à cette paraprotéine une mobilité électrophorétique particulière.

Nous pouvons seulement relever leur fréquence plus marquée dans la zone de mobilité des γ , puis des β -globulines. Mais aussi certaines protéines anormales ont une mobilité intermédiaire entre β et γ .

N°	P.T.	A	α_1	α_2	β	γ	Position des clochers		
							L.	G.	Path.
1		30	5,2	8,3	9,9	46,3			
2		37,8	7,7	17,6	12,8	24,3	β		
3	80	42,2	6,4	4,6	12,2	33,6			
4	83	40	5,4	7,6	10	37			γ
5		22,3	2,7	3,1	4,9	67	γ	γ	γ
6		18,8	6,7	9,4	7,3	57,6			
7		31,8	4,2	28,4	6,1	23,2			
8		51,2	1,6	8,4	32	6,8			β
9	87	38,7	2,4	11	38,7	9,2	β	β	β
10	62	40,4	6,8	22,4	14,8	15,5			
11		26	8,4	20,8	14,5	30,3			
12	83	42,2	2,9	6	4,9	44			γ
13		34,5	4,2	—	55,3	6			
14		22,6	3,1	4,8	3,5	66			
15		44,4	3,2	13,3	8-23,1	8			γ
16		36,2	8,1	15,6	10,8	29,3			
17		26,3	4,5	13,5	14,8	40,9			γ
18		34,7	5,8	5,9	11,3	42,3			γ
19	90	24	6,8	18	43,7	7,5			β
20	60	44,6	7,1	13,7	10,7	23,6			
21	96	34,5	—	5,2	7	53,2	β	γ	
22		28,1	3,7	10,8	5,2	53,2			
23		37,2	2,2	9,3	10,1	41,2	β	γ	
24		27	2,3	4,8	3,6	62,4			γ
25		19,7	2,4	5	8,9	64			γ
26	89	37	2,3	4,6	14,4	41,7			γ
27	60	36,3	2,1	9,1	44,7	7,8			
28		32,1	1,2	11,1	44,4	11,2	α_2	β	β
29		35,5	6,6	6,8	6,9-12,3	19,6-12,3			β
30	91	38,2	1,5	5,1	9,6	45,7			γ
31		40,7	3,9	7,8	6,8	40,7			γ
32	73	53,5	2,1	6,3	9,2	28,8	β		
33	101	24,7	1	7	5,3	62	β	γ	γ
34	58	37,1	6,3	9,3	17,5	33,8		γ	γ
35	100	45,7	5,1	10,2	34,7	4,3		β	β
36	91,8	34,7	4,9	9,1	11	40,3			
37	74	47	3,7	9	9,8	30,4			
38	134	26,3	1,5	4,5	4-5,5	58,2			
39	86	16,4	3	5,2	75,4		β	γ	γ
40	81	34,7	5,3	6	5,3	48,7			
41	73	44,4	2,8	11,1	7,3-5,7	12,8-16,1	β		γ

ELECTROPHORÈSE EN CUVE

N°	A	α_1	α_2	α_3	β_1	β_2	β_3	γ_1	γ_2	σ
1										
2										
3	44,6	8,2	5,2	4,6		9	3,8	8,2	16,6	0,13
	6,8	5,7	5,2	4,2		3,7	2,6	1,5	0,7	
4	39,9	6,2	13,4	10,2		22,6	11,8	1,8	0	0,20
	7,0	6,0	4,8	3,6		2,8	2,3	1,8		
5	13,5	2,8	2,4	3,3	—	78	—	0	0	0,27
6										
7										
8	37,8	7,5	5	7,2		10,0	23,8	2,8	5,9	0,20
	6,8	5,9	5,1	4,3		3,2	2,7	2,0	1,2	
9	38,8	4,2	3,8	6,7		10	30,9	1,9	3,8	0,28
	6,8	5,7	4,9	4,4		3,6	2,9	2	1,4	
10										
11										
12	36,2	4,1	9,9	3,6		3,0	2,7	38,4	2,2	0,11
	6,8	5,9	4,7	3,9		3,4	2,6	1,7	1,0	
13										
14										
15	46,6	4,7		11,2		10	21,2		6,2	
	6,8	5,8		4,8		3,4	2,2		1,2	
16										
17										
18	27,6	7,9		12,0		11,3	28,8	7,9	4,5	0,95
	6,8	5,6		4,3		3,3	2,2	1,6	0,7	
19										
20	47,5	9,9		16,8	—	9,2	—	12,9	3,6	0,14
	6,8	5,7		4,6		3,4		1,9	1,2	
21	27	4,7		8		8	4,4		47,8	0,12
	6,5	5,3		4,0		3,1	2,3		1,2	
22	21,8	4,7		9,8	0	0	63,8	0	0	0,26
	6,8	5,6		4,5			2,8			
23	30,5	5,3	3,8	13,9		6,3	3,3		17,1	
	7	5,8	5,1	4,3		3,5	2,4		1,7	
24	13,6	3,0		5,7		3,8	4,3		69,5	0,26
	6,5	5,5		4,4		3,4	2,6		1,2	
25	±	+		+		+	+	+	50 %	
	6,7	5,6		4,6		3,3		1,8	1,1	
26	30,6	4,4		5,3		9,5	5,1		45,6	0,25
	6,8	5,8		4,9		3,7	2,8		1,8	
27	31,7	3,6	10,5	5,5	—	44,0	—		4,8	0,29
	6,8	5,8	4,6	1,9		3			1,9	
28	30,8	6,2		10,5		10,8	32,9		8,9	0,23
	7	6,2		4,9		3,6	2,6		1,9	
29	37,9		3,7	3,5		8,3	5,5	22,9	18,2	0,19
30	30,1	4,2	3,8	5,1		7,3	2,4		47	0,43
	6,8	5,7	4,9	4,4		3,5	2,7		1,5	
31										
32										
33	18,5	3,7		6,6		7,2	4,0		60,4	0,26
	6,9	6,0		4,7		3,7	2,3		1,2	
34	47,8	6,7	3,5	8,2	—	10,8	—		23	0,2
	7,0	6,0	5,3	4,6		3,4	—		1,8	
35	38,6	4,6	8,3	7,5	—	26,5	—		4,3	0,4

Nos résultats sont en accord avec les chiffres rapportés par KUNKEL, RUNDLES, PUTNAM et SCHWARTZ, PUTNAM et UDIN, que nous avons groupés sur ce schéma. Il ne nous semble pas possible d'affecter à la paraprotéine, une mobilité électrophorétique déterminée.

Importance de l'onde myélomateuse.

Éliminant les 2 tracés quantitativement normaux, nous relevons :

- 7 pics représentant de 20 à 30 % des protéines sériques
- 4 pics représentant de 30 à 40 % des protéines sériques
- 2 pics représentant de 40 à 50 % des protéines sériques
- 7 sont au-dessus de 50 %, l'un d'eux atteint 78 %.

La dispersion de l'onde anormale.

Nous avons cherché à exprimer l'aspect du pic myélomateux, resserré, à base étroite, très aigu, suggérant un ensemble protéique très homogène, par une constante σ . Nous avons assimilé ce pic à une courbe de GAUSS dont nous avons calculé le paramètre σ ou écart type (*) par la méthode statistique habituelle, après agrandissement photographique.

L'écart type d'une globuline normale est de l'ordre de
 $0.6 \text{ cm}^2 \text{ volt}^{-1} \text{ sec.}^{-1} \cdot 10^{-5}$.

Les paraprotéines des myélomes sont beaucoup plus homogènes. Leur écart type, compris entre 0,1 et 0,3 traduit la courbe très aiguë qu'elles forment. Cependant 2 observations ne suivent pas ce critère (n° 18 et 35).

On se rapproche ainsi du quotient hauteur/base calculé par DE NICOLA pour les électrophorèses sur papier.

Taux des γ -globulines vraies.

Dans le cas des myélomes de type β , nous avons été surpris par la faible valeur des γ -globulines : nulle dans deux cas (obs. n° 22 et 5), 5 fois inférieure à 5 %, donc nettement inférieure aux valeurs normales les plus faibles données par ARMSTRONG (6,5 %), et sans rapport avec les taux classiques de WIEDEMANN (15,2 %). Les taux les plus élevés que nous relevons dans ces cas étant de 8,7 % (n° 8) et 8,9 % (n° 28).

Il peut être un peu prématuré de tenter d'interpréter ce fait par une hypothétique concurrence dans l'organisme entre la synthèse des γ -globulines normales et des paraprotéines. Mais nous pouvons établir une comparaison avec les taux de γ -globu-

(*) On peut limiter la définition de l'écart type dans ce cas particulier en le considérant comme la valeur qu'il convient de reporter de part et d'autre de l'axe de symétrie de la courbe pour englober 68 % de la surface de cette courbe.

line qu'a rapporté VIEUX dans sa thèse, où, sur 25 lymphoses, il retrouve 1 agamma globulinémie totale, et 4 pourcentages inférieurs à 8,5 %.

L'électrophorèse sur papier.

La position de la fraction pathologique étant déterminée par rapport à un sérum normal migrant parallèlement, quelques sérums sont classés parmi les myélomes de type γ après électrophorèse sur papier, qui se sont révélés être de type β après étude en cuve. L'inverse ne s'est pas produit.

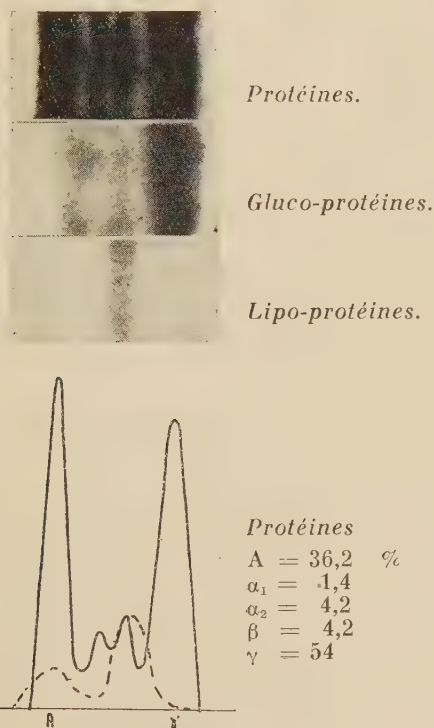


SCHÉMA N° 2.

Electrophorèse sur papier du sérum de M. MAR... (Obs. N° 21).

On retrouve de haut en bas :

Le protéinogramme, après coloration à l'amido-schwartz, avec la tache intense correspondant à la protéine myélomateuse ; le glucidogramme, en regard de cette paraprotéine, montre la quantité considérable de glucoprotéines qu'elle renferme ; le lipidogramme est sensiblement normal.

Le tracé en trait plein reproduit le diagramme protéique, le lipidogramme est représenté en pointillé.

Une explication nous est offerte dans le cas n° 5 qui présentait une cryoglobulinémie. L'électrophorèse a été faite à la température du laboratoire. Or POLONOWSKI et DELBARRE ont montré que, dans ces conditions, la cryoglobuline migrerait très difficilement.

Les pourcentages des fractions pathologiques, quelqu'en soit la mobilité, sont tous supérieurs à 20 % ; certains atteignent 75 %.

Cependant, nous préférons, ici encore, à la notion de pourcentage, la notion de **forme**. L'aspect très aigu du pic globulinique nous a paru un élément essentiel dans le diagnostic de l'origine des hyper γ -globulinémies. Aucune autre affection ne nous a offert le même aspect jusqu'ici.

Les tracés des lipoprotéines semblent normaux. L'onde β est quelquefois un peu plus lente qu'habituellement, mais nous ne pouvons pas en tirer argument, ce fait étant banal.

Le glucidogramme est, par contre, typique.

Correspondant à la place de la paraprotéine sérique, une tache rouge très dense signe la myélomatose, aussi bien que la tache noire du protéinogramme. Après photométrie cette tache rouge de glycoprotéines est traduite par un clocher dont la position correspond exactement au clocher protéique.

SONNET, LOUIS et HEREMANS ont montré, il y a peu de temps que ce pic anormal du glucidogramme, était dû à la richesse en hydrates de carbone de la paraprotéine myélomateuse, qui contient du galactose, du mannose, de la glucosamine, et aussi du fucose.

L'électrophorèse nous permet donc dans la plupart des cas d'affirmer le diagnostic de myélome. La séparation sur papier, pratiquée quotidiennement, conserve toute sa valeur, même quand la comparaison avec la technique en cuve souligne sa sensibilité moindre. Elle nous permet seule de mettre en évidence dans la maladie de KAHLER, l'augmentation considérable des glucoprotéines. Par contre, l'électrophorèse en cuve nous indique le déficit en γ -globulines des plasmocytomes de type β .

III. — L'ULTRA-CENTRIFUGATION

A. IMPRESSIONS OFFERTES PAR LA LITTÉRATURE

Après que Mc FARLANE (1935) ait proposé les premières analyses de plasmocytomes, PEDERSEN en 1937 et 1953 précise la description de trois ondes existant normalement :

1) Une onde A ayant une constante $S = 4,5$, contenant l'albumine et, malgré leur poids moléculaire considérable

(1.000.000) une partie des β -globulines dont le poids spécifique minime ralentit la sédimentation.

2) Une onde X de constante égale à 5,9 formée de lipoprotéines.

3) L'onde G de constante égale à 7,5 donnée par les globulines de poids moléculaire élevé.

Mais il note comme normale une fraction inconstante de sédimentation élevée, 19 à 20 S.

RUNDLES pense que les protéines anormales du plasmocytome sédimentent entre 6,17 et 6,76 S. Il ne retrouve pas habituellement la protéine de $S = 20$, qui est par contre pathognomonique pour WALDENSTRÖM, WIEDEMANN, QUATTRIN, d'une entité nouvelle : la **macroglobulinémie hémorragique**.

Confirmés en cela par HARTMANN, DALGAARD, RIVER et Mc FARLANE, PUTNAM et UDIN obtiennent par ultra-centrifugation 2 composants de sédimentation constante : $S = 6,6$ et $S = 9,5$ en moyenne.

B. NOS OBSERVATIONS

Nous reproduisons pour chaque sérum le stade d'ultra-centrifugation objectivant le mieux ses caractères particuliers. Chaque sérum a été examiné à 5 stades différents de la séparation, séparés sauf dans quelques cas, par des intervalles de temps de 16 minutes.

Le diagramme est défini par rapport au sérum normal pris pour référence et les constantes de sédimentation sont exprimées en unités Svedberg.

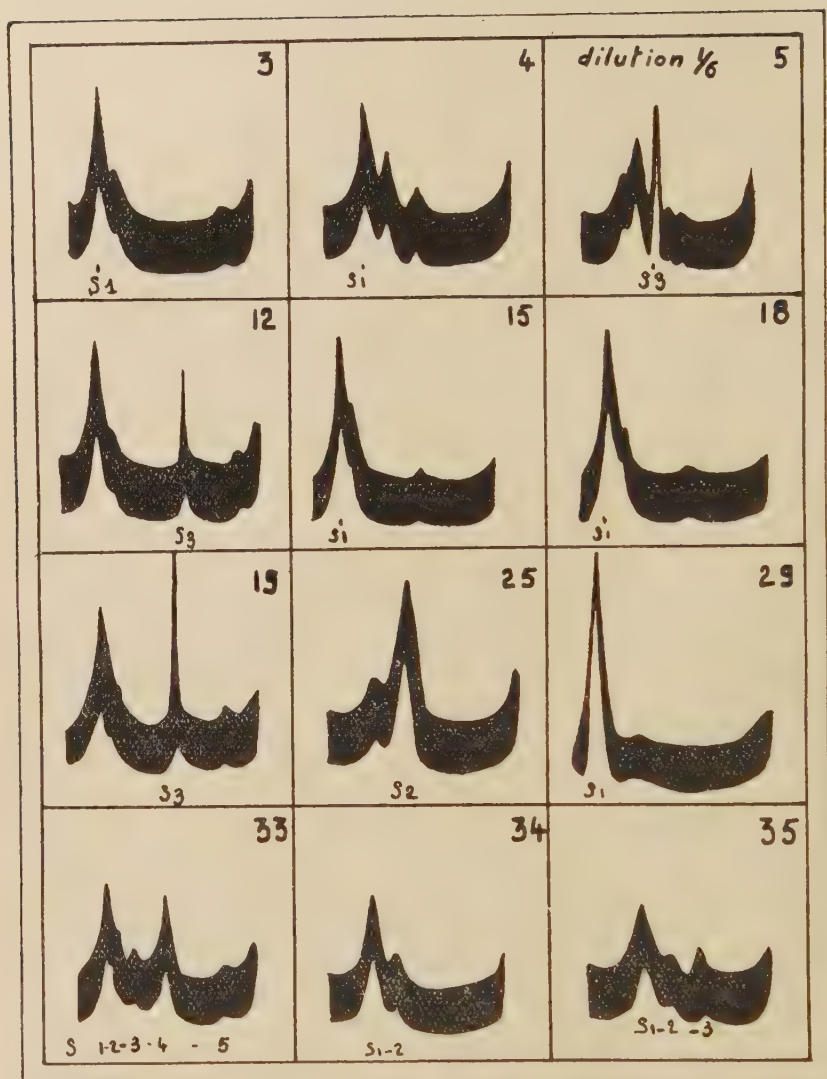
Interprétations des ultra-centrifugations :

OBSERVATIONS :

N° 3 : Trois constituants de vitesse $S_1 = 3,4$, $S_2 = 5,25$, $S_3 = 13$.
 S_2 est en quantité relative plus élevée que dans le cas normal.

N° 4 : 3 constituants de vitesse $S_1 = 3,2$, $S_2 = 5,2$, $S_3 = 7,4$.
 S_2 et S_3 semblent plus abondants que normalement.
La vitesse S_3 est inférieure de moitié à la vitesse normale.

N° 5 : 3 essais.
Plasma dilué au 1/5 (Véronal sodique).
Sérum dilué au 1/6 et au 1/4.
Dilution au 1/4 : on obtient 4 pics.
Dilution au 1/6 : le 4^e pic s'est dédoublé ; on obtient donc 5 constituants de vitesses respectives :
 $S_1 = 3,6$, $S_2 = 5$, $S_3 = 6,6$, $S_4 = 6,7$, $S_5 = 8$.
Les pourcentages relatifs de S_1 et de S_2 sont inversés, et ils sont moins abondants que normalement.
 S_3 est un constituant anormal, très abondant
La vitesse de S_1 est diminuée de moitié.



'SCHÉMA N° 3.

Sur ce schéma sont reproduits les diagrammes d'ultra-centrifugation de nos observations, dont les commentaires sont exposés page 47.

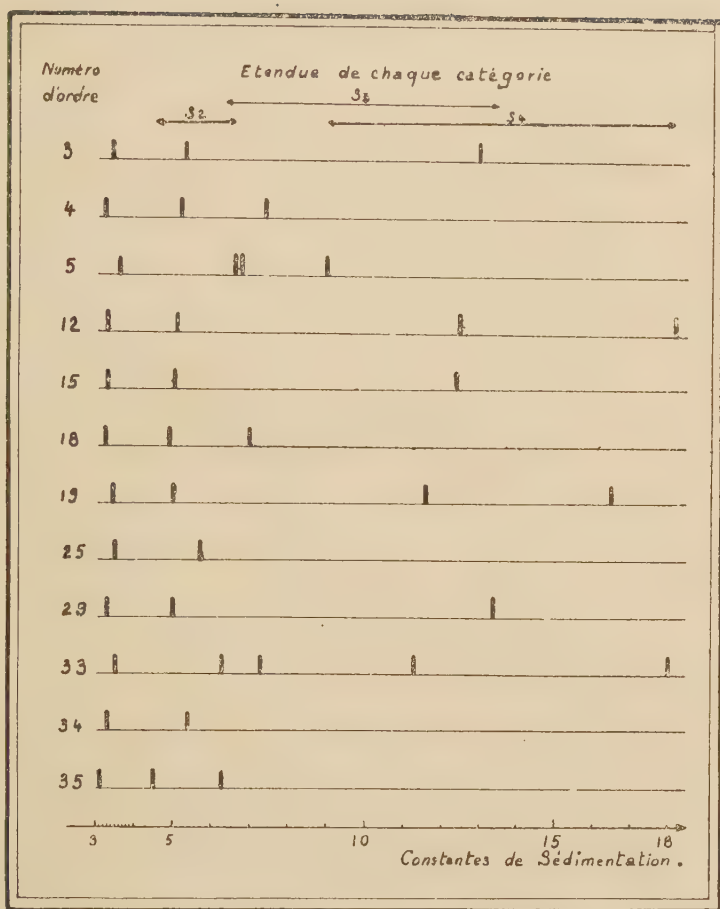


SCHÉMA N° 4.

Les constantes de sédimentation, déterminées pour chaque protéine par l'ultracentrifugation, ont été représentées pour chaque sérum, sur une échelle, couvrant les mobilités de 3 à 18 Unités Svedberg. Ce schéma rend compte des valeurs très différentes pouvant être attribuées aux constituants S_2 , S_3 et S_4 .

- N° 12 : 2 essais :
 4 constituants : $S_1 = 3,3$, $S_2 = 5,1$, $S_3 = 12,5$, $S_4 = 18,2$.
 S_1 et S_2 sont sensiblement normaux, S_3 très abondant et homogène est de présence insolite. S_4 , normal quant à sa position, est un peu trop abondant.
 Le diagramme serait pratiquement normal si l'on fait abstraction de S_3 .
- N° 15 : 3 constituants : $S_1 = 3,3$, $S_2 = 5$, $S_3 = 12,4$.
 Diagramme pratiquement normal. S_2 est un peu élevé.
- N° 18 : 3 constituants : $S_1 = 3,2$, $S_2 = 4,9$, $S_3 = 7$.
 S_2 est difficilement séparé de S_1 (30 min. de centrifugation).
 On suspecte la présence d'un quatrième constituant.
- N° 19 : 4 constituants : $S_1 = 3,4$, $S_2 = 5$, $S_3 = 11,6$, $S_4 = 16,5$.
 Légère inversion des pourcentages S_1 — S_2 , mais S_3 est franchement anormal, de forte concentration et très homogène.
- N° 25 : 2 constituants : $S_1 = 3,5$, $S_2 = 5,75$.
 Il y a une absence totale du 3^e constituant normal, et une inversion de l'importance relative de S_1 et S_2 .
- N° 29 : 3 constituants : $S_1 = 3,3$, $S_2 = 5$, $S_3 = 13,4$.
 S_3 est en faible quantité.
- N° 33 : 2 essais à deux mois d'intervalle, peu différents.
 5 constituants :
 $S_1 = 3,5$, $S_2 = 6,3$, $S_3 = 7,3$, $S_4 = 11,3$, $S_5 = 18$.
 S_3 et S_4 sont inhabituels, S_4 est très abondant (comparable à S_1 normal).
 S_3 est ici très diminué ainsi que S_2 .
- N° 34 : 2 constituants : $S_1 = 3,3$, $S_2 = 5,4$.
 S_1 est relativement plus faible que normalement.
 On décèle à l'état de traces un troisième constituant.
- N° 35 : 3 constituants : $S_1 = 3,1$, $S_2 = 4,5$, $S_3 = 6,3$.
 On décèle un 4^e constituant réduit à une trace.
 La présence de S_3 est anormale. S_2 est trop lent.
 S_1 est d'importance faible.

C. COMMENTAIRES

1. Fréquence des anomalies.

Deux tracés seulement sont à peu près normaux. Il est intéressant de noter que l'électrophorèse en cuve de l'obs. n° 3 est également très peu modifiée. 10 autres tracés sont anormaux.

2. Anomalies dues à la superposition d'un composé insolite.

5 diagrammes comportent un tel constituant (obs. n° 5, 12, 19, 33 et 35). On note même dans un cas (obs. n° 33), 2 constituants anormaux.

La mobilité de ce pic pathologique est variable, voisine de 7 dans 3 cas, de 12 dans 2 autres cas.

L'aspect de ces pics, par contre, est évocateur : élevés, homogènes, resserrés, de base très étroite (une exception : le cas n° 35). Il ne peut mieux se comparer qu'à l'onde pathologique paraprotéique que nous avons décrite à propos de l'électrophorèse.

3. Anomalies par mobilité anormale d'un constituant.

La mobilité de S_1 s'écarte peu de 3,33 unités Svcdberg. S_2 varie dans les mêmes limites plus larges de 4,3 à 6,3 U.S. Mais souvent la mobilité de S_3 est inférieure à la moitié de sa vitesse normale (n°s 4, 5, 18, 33, 35), se rapprochant ainsi de la mobilité normale du constituant S_2 . On pourrait alors se demander si ce ne serait pas l'existence dans ce cas, de la fraction appelée S_2 qui serait pathologique.

4. Anomalies de concentration.

Notons d'abord l'absence (n° 25) ou l'existence à l'état de traces de la fraction S_3 . S_1 de présence constante est souvent moins abondant que dans le sérum normal ; diminué au profit de S_2 (n°s 5, 15, 19, 25, 34, 35).

5. D'autre part nous retrouvons le quatrième constituant à l'état de traces (n° 35), et un pourcentage notable d'un 5° pic de mobilité = 18 U.S. (n° 33).

Il est intéressant de rapprocher la mobilité du pic S_4 des sérums n°s 12 et 19, qui ont en commun une onde paraprotéique sur leur diagramme.

Devrions-nous considérer comme anormale, l'onde due à des macroglobulines de poids moléculaire très élevé (1 million) dont la constante de sédimentation est de l'ordre de 18 unités Svcdberg, mais dont la concentration est faible, ou bien le pic insolite, d'aspect très homogène, très abondant, et de constante variant entre $S = 7$ et $S = 12$ U.S. ?

La première interprétation serait conforme à la description que l'on s'accorde à faire de la macroglobuline type WALDENSTROM, mais il est possible de trouver dans un sérum normal une molécule lipoprotéique d'une telle masse (WIEDEMANN).

Mais en faveur de la deuxième hypothèse, milite la ressemblance extrême des diagrammes d'ultra-centrifugation, publiés par WIEDEMANN, WUHRMANN, QUATTRIN, et ceux que nous reproduisons.

Nous sommes bien conduits à nous demander si les méthodes de mesure utilisées lors des examens publiés par ces auteurs

et ceux que nous rapportons, sont comparables, ou si nous avons affaire à une entité morbide différente.

Il est regrettable que cet examen n'ait pas été effectué pour tous les sérums dont nous disposions, car peut-être aurions-nous pu séparer le groupe relativement homogène des aspects électrophorétiques, suivant l'apparition ou non d'un constituant insolite à l'ultra-centrifugation.

IV. — EXAMENS COMPLÉMENTAIRES

A. CRYOGLOBULINES

Le terme de cryoglobuline proposé par LERNER et WATSON désigne une protéine sérique, responsable de la gélification du plasma ou du sérum, à une température inférieure à 37°. Le phénomène est parfaitement réversible. Cette anomalie est relativement rare. POLONOWSKI et DELBARRE en comptent seulement une trentaine d'observations. Ils en apportent eux-mêmes 4 exemples sur un ensemble de 60 cas de maladies de KAHLER.

Mais WINTROBE et BULL ont bien décrit la précipitation à froid du sérum.

Considérée par certains comme étroitement liée à la maladie de KAHLER, la cryoglobuline a cependant été retrouvée dans de nombreuses affections ; aussi diverses que par exemple — les maladies infectieuses, le diabète, les néphropathies — (DI GUGLIELMO). On ne saurait donc lui conférer une valeur pathognomonique.

Nous rapportons 1 cas (obs. n° 5) où une telle gélification à froid se produisait. Massive d'abord, elle ne se manifestait plus lorsque le sérum nous a été confié, que par l'irrtractibilité du caillot, et l'impossibilité d'étaler correctement une lame de sang.

Nous avons mis en évidence la propriété de ce plasma, en comparant les viscosités qu'il présentait à 37° et à 2° C. Elle était alors sept fois plus grande.

Faut-il rapprocher ce fait du tracé d'ultra-centrifugation obtenu avec le sérum du même malade ?

Nous ne le pensons pas. Des tracés analogues n'ont pas été accompagnés de ce phénomène (obs. n° 33 en particulier) et de plus la majeure partie des macroglobulinémies type WALDENSTRÖM qui ont été rapportées, ne présentaient pas de cryoglobuline.

DUSTIN et LEONIS ayant isolé et analysé une telle cryoglobuline, la trouvent très analogue à une γ -globuline purifiée. Il serait assez difficile d'assimiler la cryoglobuline et la macroglobuline. POLONOWSKI et DELBARRE en ont analysé trois échantillons, l'un se rapprochant des globulines normales, les deux autres se comportant comme une protéine de Bence Jones, de par leur teneur en méthionine, essentiellement.

B. RÉACTION DE SIA.

VARGUES et Mlle LABROSSE comptent au nombre des propriétés de l'euglobuline I₁ de SANDOR, ou γ lente, son insolubilité dans l'eau à un pH compris entre 6 et 8.

Sa mise en évidence dans le sérum est basée sur cette propriété. Elle précipite par simple dilution du sérum avec de l'eau distillée, et on peut la recueillir par centrifugation. Ce précipité est soluble en présence d'électrolytes, de sérum physiologique par exemple.

SIA a étudié cette réaction en 1923 à propos du Kala-Azar, mais elle est également positive dans le paludisme, la cirrhose, la maladie d'OSLER. Sa spécificité est donc très discutable. Cependant WALDENSTROM pense que les valeurs les plus élevées de cette réaction sont obtenues dans les dysglobulinémies malignes hémorragiques.

Mme F... (obs. n° 12) présentait dans l'histoire de sa maladie un syndrome hémorragique. Le myélogramme désertique présentait seulement quelques éléments lymphoïdes atypiques. L'électrophorèse sur papier de son sérum évoquait le myélome.

La réaction de SIA pratiquée à ce moment fut extrêmement positive.

Nous avons effectué l'électrophorèse sur papier simultanément :

— du sérum.

— du sérum traité par l'eau distillée.

— du précipité repris par le sérum physiologique.

Le tracé après précipitation par l'eau distillée était celui d'un sérum normal. Le précipité migrait comme une γ -globuline, reproduisant sur la bande de papier la tache pathologique du sérum normal.

L'ultra-centrifugation et l'électrophorèse en cuve confirmèrent la probabilité de maladie de WALDENSTROM.

Ce cas offre toutes ressemblances avec les observations publiées par DI GUGLIELMO (n°s 50 et 51), les tracés des ultra-centrifugations seraient exactement superposables, (n° 50), n'étaient les vitesses différentes des constituants décelés.

C. IMMUNOCHIMIE

GRABAR et BURTIN ont utilisé la technique de OUCHTERLONY, d'analyse immuno-chimique en milieu gélifié, pour l'identification des protéines sériques.

Le principe consiste à faire diffuser les protéines et les anti-sérums spécifiques à la rencontre les uns des autres sur de la gélose coulée dans une boîte de PÉTRI. Aux points de rencontre se forment des traits de précipitations. Il y a autant de traits que de systèmes antigènes-anticorps (BURTIN et GRABAR).

Une modification de cette méthode élégante consiste à soumettre le sérum à une électrophorèse préalable sur une bande de gélose puis à déposer le long de cette bande, un anti-sérum spécifique de la protéine recherchée.

WUHRMANN, CATALDI, SLATER, ont utilisé cette technique pour préciser la notion de myélome γ . Ils proposent de diviser les protéines en deux groupes, l'un étroitement apparenté, l'autre plus ou moins en rapport avec les γ -globulines normales.

FAUVERT et HARTMANN ont ainsi démontré la présence dans le sérum de la protéine de BENGE JONES ; et pensent pouvoir, avec cette technique immuno-chimique, en révéler l'existence dans les urines où elle est inapparente.

En terminant ce chapitre, nous voudrions souligner la bonne concordance existant entre les électrophorèses sur papier et en cuve.

L'électrophorèse des malades ayant été suivis régulièrement ne montre pas de variations dont on puisse tenir compte (M. TH..., obs. n° 34 : 19 électrophorèses entre Juin 1954 et Août 1955. M. C..., n° 9 : 4 électrophorèses d'Avril à Octobre 1955) (1).

Les anomalies des diagrammes d'ultra-centrifugation sont délicates à classer et à interpréter. Le problème du début de la maladie de KAHLER se pose. L'électrophorèse de Mme C..., que nous avons éliminée de notre statistique, montre des pourcentages croissant dans le temps d'une γ -globuline d'aspect myélo-mateux. Les examens complémentaires n'ont pas encore fait la preuve de l'origine Kahlérienne de cette hyperglobulinémie.

(1) Ces électrophorèses ont été pratiquées par Monsieur le Pharmacien-Colonel ACCOVER pour ces deux malades de l'Hôpital Militaire Desgenettes. Nous lui adressons nos remerciements.

CHAPITRE IV

Protéines et acides aminés urinaires

La protéine de BENCKE JONES symbolise la participation rénale dans la maladie de KAHLER. Mais elle n'est qu'un aspect, assez rare d'ailleurs, des anomalies décelées par l'examen des urines.

Dans ce chapitre nous grouperons les résultats relevés après électrophorèse des protéines urinaires. Les données de l'ultra-centrifugation seront exposées ensuite.

L'étude chromatographique des acides aminés urinaires fera l'objet de la troisième partie de ce chapitre.

L'étude de la protéine de BENCKE JONES, en dehors de l'électrophorèse et l'ultra-centrifugation, comprendra les résultats du dosage des acides aminés qui la constituent, mis en parallèle avec les analyses effectuées par d'autres auteurs.

Nous essaierons enfin d'établir une correspondance entre les anomalies urinaires et sériques.

I. — ÉLECTROPHORÈSE DES PROTÉINES URINAIRES

Il faut en avoir préalablement constaté l'existence, donc, quelles chances avons-nous de déceler des protéines dans les urines d'un myélome ?

65 % pour GESCHICKTER et COPELAND (150 cas, 98 protéinuries).

61 % pour BAYRD et HECK.

40 % pour DI GUGLIELMO.

Par contre, on décrit (BOULET et Coll., BOUSSER), des formes initialement rénales des plasmocytomes.

THIERS et REVOL ont publié une observation dans laquelle l'albuminurie, découverte au cours d'un examen systématique, précéda de 5 ans l'apparition des douleurs osseuses.

L'étude qualitative des protéines urinaires par les méthodes électrophorétiques a fait l'objet des travaux de SOULIER, de SLATER et KUNKEL, de FAUVERT et HARTMANN. Ces derniers soulignent bien l'intérêt qui s'attache à une concentration protéique suffisante, permettant seule de déceler la totalité des constituants protidiques. En particulier, plus la concentration est poussée, par dialyse contre une solution de polyvinylpyrrolidone, par exemple, plus les γ -globulines ressortent après électrophorèse sur papier.

Si quelquefois il s'agit d'une albuminurie vraie, banale, isolée, SOULIER a, par contre, rencontré dans une série de 17 cas, 7 globulinuries isolées.

Les électrophorèses des protéines urinaires de nos malades.

Sur 34 cas, nous avons retrouvé 26 protéinuries de taux variables.

Ce tableau rapporte les valeurs déterminées pour chaque fraction après électrophorèse sur papier.

Les taux et les mobilités provenant de l'électrophorèse en cuve sont indiqués dans la mesure où la concentration en protéine de l'urine soumise à l'examen a été suffisante pour fournir un diagramme interprétable.

Commentaires.

Des déterminations statistiques ne sont pas notre propos. Trop peu d'urines ont été analysées de façon précise.

Cependant d'après les 13 électrophorèses sur papier, nous pouvons faire quelques constatations, soient :

6 protéinuries totales.

7 globulinuries isolées, comprenant 2 observations de γ -globulinuries isolées, et 3 observations β -globulinuries.

Les protéines de BENICE JONES se retrouvent, soit seules, soit accompagnées de protéines diverses, et semblent se comporter en β ou γ -globulines. Mais aussi deux échantillons d'urine renfermant des protéines banales, sans albumose identifiable par la technique employée, ont présenté un diagramme électrophorétique n'offrant que des β ou des γ -globulines seules (obs. n^{os} 23 et 11).

I. — ELECTROPHORÈSE DES PROTÉINES URINAIRES

1. — SUR PAPIER.

N°	P.T.	A	a		b		c	
			α_1	α_2	β_1	β_2	γ_1	γ_2
2		24,4		7,5		49,5		12,6
5		0		0		100		0
9	0,5	25,4		23,7		42,4		8,5
11	0,4	0		0		0		100
19	20	0		0		100		0
22	13	9,9		12,1			78	
23						100		
24	8,5	0		11,8-7,8		9,8		70,5
25			49				51	
28		0		12,7		29,5		57,7
34	19	18		2,5-5,7		3,2		79
36		11,8		4,4-6,7		9,4		7,4
39	25	23,2		5,5-4,4		51,6		15,3

2. — EN GEL.

N°	P.T.	A	a		b		c	
			α_1	α_2	β_1	β_2	γ_1	γ_2
4			Non identifié 12 %					87
								0,8
5		0		0		100		0
						3,4		
8		0	Mob. 5,1					—
22		12,7		18,0-11,6		55,0		2,6
		6,7		5,1- 4,0		3,1		2,0
23		100						
		7						
24			Globulines 34 %					66
								1,5
34				—		—		34,2-65,8
								2,0- 1,4
35				—		100		
						2,9		

II. — ULTRACENTRIFUGATION DES PROTÉINES URINAIRES

N°	
4	Un seul constituant de vitesse : 2,1 Unités Svedberg. Mais la courbe obtenue est asymétrique.
5	Un seul constituant de vitesse : 3,3 U.S. Courbe asymétrique.
34	Un seul constituant de vitesse : 3,1 U.S.
35	Deux constituants de vitesse : $S_1 = 3,15$ U.S., $S_2 = 6,3$ U.S.

8 électrophorèses en cuve se divisent ainsi :

- 1 protéinurie totale,
- 1 albuminurie isolée,
- 6 globulinuries.

On est gêné pour apprécier la **nature des globulinuries** par la faible concentration des urines. Ainsi, l'examen des urines de l'observation n° 4 ne montre pas d'albumine, 82 % de γ -globulines et 12 % de globulines non identifiées. Il en est de même pour l'observation n° 24 où l'électrophorèse révèle 66 % de γ -globulines, et 34 % de globulines non identifiées.

Une seule qualité de globuline peut également être mise en évidence en dehors de l'obs. n° 8 discutable (un seul constituant de mobilité 5,1, mais la concentration protéique est trop faible pour affirmer l'absence d'autres globulines). L'observation n° 34 ne présente que des γ -globulines, et l'observation n° 35 que des β -globulines. Cependant cet examen de l'observation n° 34 est discutable, car l'électrophorèse sur papier, après concentration par dialyse, révèle 70 % de γ -globulines, mais associées à 18 % d'albumine, et 12 % de globulines α_1 , α_2 et β .

Chez ce malade, des électrophorèses successives des protéines urinaires, ont offert des pourcentages variables des diverses fractions, sans que l'on puisse mettre en évidence une évolution logique de la qualité de cette protéinurie, dont le seul élément constant est la présence des γ -globulines, seules ou associées aux globulines α et β (3 examens) ou associées à l'albumine et à la totalité des globulines (2 examens).

Nous ne relevons qu'une seule discordance (n° 23) où des globulines α_2 ou β pour le papier, se trouveraient avoir en cuve une mobilité d'albumines.

Partout ailleurs les résultats sont concordants.

II. — L'ULTRA-CENTRIFUGATION

Mc FARLANE ne donne en 1935 que des résultats préliminaires, après centrifugation des protéines urinaires au cours de diverses affections. Depuis, l'ultra-centrifugation a surtout servi à l'étude de la protéine de BENGE JONES, en vue d'en définir le poids moléculaire ; sans que les auteurs aient attaché beaucoup d'importance aux protéinuries du myélome autre que l'albumose.

Nous n'en avons qu'un exemple.

Obs. n° 34 : un seul constituant est décelé, de vitesse de sédimentation $S_{20} = 3,1$ U.S.

Un point de comparaison précis donné par l'électrophorèse en cuve du même échantillon d'urine, séparant deux fractions de mobilité très voisines :

05,8 % de mobilité = 2,0 ; 34,2 % de mobilité = 1,4.

Il y a là une discordance, explicable peut-être par un poids moléculaire très faible de ces γ -globulines, ou inversement par une mobilité extrêmement réduite de ces protéines. Ces deux hypothèses sont également intéressantes, mais les éléments nécessaires à leur discussion nous manquent.

III. — ETUDE DES ACIDES AMINÉS URINAIRES

L'élimination urinaire de l'azote aminé est de 5 à 7 mg. pour cent centimètres cubes chez l'adulte. Cette élimination est assez constante pour un sujet donné, même en période digestive ; et son évaluation renseigne assez bien sur la quantité totale d'acides aminés libres excrétés par un individu.

L'étude qualitative des acides aminés urinaires est possible après leur séparation chromatographique. Le mécanisme d'excrétion rénal est incertain, mais on a défini les aspects normaux du chromatogramme chez l'adulte (BIZERTE, DUBUISSON). Cependant il faut préciser les conditions opératoires, car tel acide aminé normalement visible en traitant une certaine quantité d'acides aminés, n'apparaîtra pas si l'on traite une quantité plus faible — le rencontrer peut alors passer pour anormal.

STEIN et CAREY, après chromatographie quantitative sur résines échangeuses d'ions, donnent le schéma normal suivant de l'excrétion urinaire normale :

- 100 mg. par jour et plus : glycine, histidine, glutamine.
- 25 à 60 mg. par jour : sérine, thréonine, asparagine, alanine, tyrosine.
- 10 à 20 mg. par jour : acide α -amino-adipique, cystine, leucine, isoleucine, phénylalanine, lysine.
- Moins de 10 mg. par jour : acide aspartique et glutamique, proline, valine, méthionine, arginine.

Cependant la présence de l'histidine n'est pas admise comme normale par MARTIN et SCHEIDEGGER.

Les chromatogrammes pathologiques sont caractérisés par une hyperaminoacidurie, avec excrétion d'un ou plusieurs acides aminés normalement absents de l'urine. L'absence d'acides aminés normaux est possible, mais rare.

Dans 16 observations de maladie de KAHLER nous avons recherché quels acides aminés étaient éliminés. Nous les avons classés dans le tableau, qui indique seulement avec le taux d'azote aminé, la présence ou non dans l'urine de tel amino-acide anormal.

D'une façon générale, on peut dire que l'élimination d'azote aminé est accrue (9 cas sur 12), avec présence presque constante de l'asparagine et de tyrosine.

LES ACIDES AMINÉS URINAIRES LIBRES ANORMAUX

N° de l'obs.	N aminé éliminé	Elimination de			Particularités du chromatogramme
		Tyrosine	Asparagine	Soufrés	
3		0	+	+	Quelques acides à longue chaîne.
4		+	+	+	Proline.
7		0	0		Manquent : Sérine, Histidine et Thréonine.
8	10	+	+	0	
9	6,4	+	+		
10	18	0	+	+	Ac. aspartique.
12		0	0	0	Chromatographie normale.
14	7	+	+	0	Tracés d'acides à longues chaînes.
21	14	+	+	0	Plusieurs Ac. basiques, tache T.
22	40	+	+	0	Longues chaînes.
23	6	0	0	0	Chromatogramme normal.
24	8,6	+	+	0	Traces de longues chaînes.
26	8	+	+	+	Ac. aspartique, traces de longues chaînes.
27	8,4	+	+	+	
28	10	+	+	0	Longues chaînes.
29	augmenté	+	+	0	Ac. aspartique.

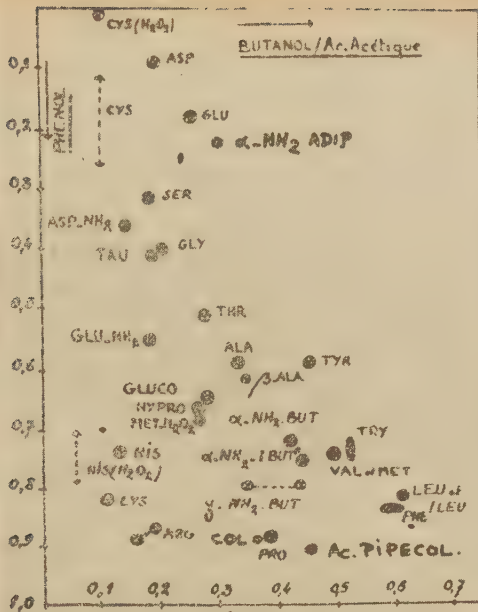


SCHÉMA N° 5.

Chromatogramme d'un mélange des principaux acides aminés rencontrés dans les milieux biologiques. Schéma emprunté à BIZERTE.



SCHÉMA N° 6.

Chromatogramme urinaire normal d'adulte. Les constituants mineurs de l'urine (cystine, acides à chaînes longues), ont été cernés au crayon. Ils seraient à peine visibles sans cet artifice.

On rencontre également de l'acide aspartique, des acides aminés soufrés (cystine) et des acides aminés à longue chaîne quelquefois. Cependant dans un cas manquent la sérine, l'histidine et la thréonine et deux chromatographies sont normales, sans explication clinique plausible.

Si ISHIRA et KOMORI ne retrouvent pas de tyrosine et d'acide aspartique dans les urines de 27 leucémiques, nous avons rencontré à quelques variantes près, un chromatogramme analogue à celui du myélome dans les urines provenant de malades atteints de réticulosarcome, de lymphogranulomatose maligne, de mélanosarcome, d'agranulocytose, de glaucome congénital, et de cirrhose, rejoignant dans cette dernière affection les résultats publiés par CACHIN et Coll.

En somme, le chromatogramme urinaire de la maladie de KAHLER, bien qu'assez constant dans son aspect ne lui appartient pas en propre.

IV. — LA PROTÉINE DE BENGE JONES ET SON ANALYSE

Cette protéine thermosoluble a intrigué de très nombreux chercheurs. Nous n'insisterons pas sur ses propriétés classiques, voulant surtout examiner les résultats des analyses que nous avons pratiqué. Nous détaillerons son comportement à l'électrophorèse et à l'ultracentrifugation, et particulièrement sa composition en acides aminés. La discussion qui suivra portera sur l'unité, l'origine, et l'élimination de la protéine.

Sa fréquence a été très diversement appréciée. Elle est présente dans 75 % des myélomes pour MAGNUS-LÉVY, 80 % pour MICHEL, 70 % pour DEVINÉ. DI GUGLIELMO estime l'avoir rencontré dans 60 % des cas. DELBARRE, sur 22 observations, en a trouvé 8, contenant de la protéine de Benge Jones.

Notre statistique semble défavorisée avec seulement 8 protéines thermosolubles, mais ce nombre est à rapporter, non pas à l'ensemble des observations, mais au nombre d'urines que nous avons pu vérifier, soit 16. Dans ce cas, sa fréquence est, pour nous, de 50 %.

Son taux est variable, 60 g. pour le malade de BENGE JONES, 36 g. dans un cas de DENT et ROSE, 42 g. au maximum dans la statistique de DI GUGLIELMO.

Le taux maximum que nous ayons observé, est de 27 g. ‰ (obs. n° 38), d'autres sont moins élevés : 13 ‰ (obs. n° 35) et 7 ‰ (obs. n° 20).

Chez le même malade, le taux de la Benge Jones est variable dans le temps, pouvant disparaître sans laisser de traces

(SOULIER) et elle est très souvent accompagnée de protéines banales, (SCHWARTZ et CATALDO).

A. L'électrophorèse.

Les mobilités déterminées par PUTNAM et STELOS sont faibles, de l'ordre de 0,1 à 4,7 $\text{cm}^2 \text{ volt}^{-1} \text{ sec.}^{-1} \cdot 10^{-5}$. RUNDLES et ses collaborateurs donnent des limites plus étroites de 1,2 à 4,1 ; et pour TEN THIJE, ces mobilités sont comprises entre 0,8 et 3,8.

En d'autres termes, la mobilité de la protéine de BENCE JONES est incertaine, comparable suivant les cas à la mobilité d'une globuline α_2 , β ou γ , mais elle est quelquefois hétérogène, migrant en partie avec α_2 et β , en partie avec γ (TERRASSE et collaborateurs).

Dans trois cas, l'électrophorèse en cuve nous a permis de préciser la mobilité de la protéine de BENCE JONES :

0,8 (obs. n° 4).

3,4 (obs. n° 5).

2,9 (obs. n° 35).

L'observation n° 4 sort donc du cadre classique.

B. L'ultra-centrifugation.

PUTNAM et STELOS donnent, sur 10 cas, des constantes de sédimentation variant de 3,08 à 3,63 U.S., donc dans des limites très faibles. Ces limites sont confirmées par SVEDBERG (3,5), MALMROS (3,1 à 3,6), et TEN THIJE (3,08 à 3,67).

Le poids moléculaire qui est défini d'après ces constantes, varie de 24.000 à 90.000 (RUNDLES), mais est situé le plus souvent autour de 35.000.

Trois ultra-centrifugations font apparaître les caractères suivants :

Obs. n° 4. — Un seul constituant asymétrique, dont la vitesse de sédimentation est : 2,1 Unités Svedberg.

Obs. n° 5. — Un seul constituant, de vitesse : 3,3 U.S.

Obs. n° 35. — Deux constituants :

$$S_1 = 3,15 \text{ U.S.} ; S_2 = 6,3 \text{ U.S.}$$

On suspecte la présence d'un dernier constituant dont la vitesse serait $S = 20 \text{ U.S.}$, sans qu'on puisse l'affirmer.

L'asymétrie de la courbe obtenue dans l'observation n° 4, est explicable par les données de l'électrophorèse, qui révèle 12 % de globulines, non identifiés, avec 88 % de γ -globulines. La vitesse de sédimentation de ce constituant est inférieure aux limites classiques.

Par contre, le diagramme de l'observation n° 35, qui met en évidence deux constituants après ultra-centrifugation, correspond à une protéine électrophorétiquement homogène, se comportant comme une β -globuline.

Il est curieux de constater qu'à des poids moléculaires faibles, le plus souvent inférieur de moitié à celui de l'albumine (35.000 contre 69.000), dont témoignent les constantes d'ultra-centrifugation, sont associées des mobilités électrophorétiques minimales, habituellement attribuées à des protéines lourdes, β ou γ -globulines.

C. Composition en acides aminés.

Souvent isolée et purifiée, la protéine de BENCE JONES a fait l'objet d'analyses qualitatives et même, certains se sont attachés à doser les acides aminés entrant dans sa composition.

La présence de méthionine est très controversée. DENT prouve avec 5 méthodes d'analyses différentes, qu'il n'y en a pas, mais retrouve tous les acides aminés indispensables à la croissance du rat.

D'autres auteurs ont décelé de la méthionine, mais tous sont d'accord pour en souligner le taux extrêmement faible : DEVINE 0,58 %. ROBERTS 0,1, SCHREIER et PLÜCKTHUN 0,02. Encore ROBERTS et SCHREIER ont-ils utilisé les méthodes micro-biologiques.

Il semble donc bien que la méthionine soit rare dans la protéine de BENCE JONES ; son absence semble tenir à la sensibilité insuffisante de la détection par des moyens chimiques. Cependant, il faut souligner, et cette notion est classique, que la composition en acides aminés varie avec chaque échantillon recueilli, voire chez le même malade au cours de son évolution.

Quelques caractères semblent toutefois assez constants :

La protéine de BENCE JONES renferme très peu d'histidine, et de la méthionine à des taux très faibles, peu de glyco-colle, et d'importantes quantités d'hydroxy-amino-acides. Ces caractères l'opposent à l'osséine, riche en glyco-colle, et ne contenant ni cystine, ni tyrosine, et iraient donc contre son hypothétique formation par libération de l'osséine lors de l'extension du processus tumoral.

Mais d'autre part, ces caractères rapprochent la protéine de BENCE JONES de certaines cryoglobulines, dont le taux de méthionine est du même ordre (POLONOWSKI et DELBARRE).

CROCKAERT a comparé la composition en acides aminés de la protéine de B.J. et des γ -globulines ; mais la richesse de ces dernières en acides aminés basiques lui fait éloigner l'hypothèse de leur parenté.

Dans ce tableau, nous avons relevé et mis en parallèle les résultats obtenus par CROCKAERT, dans l'analyse d'un échantillon de BENCE JONES, par DEVINE, par DUSTIN et LÉONIS, et les valeurs que nous avons déterminées pour trois échantillons.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'acides aminés.

*COMPOSITION EN ACIDES AMINÉS
DE DIFFÉRENTS ÉCHANTILLONS DE PROTÉINE
DE BENCE-JONES*

	<i>Crokaert</i>	<i>Devine</i>	<i>Dustin</i>	<i>Echantillons provenant des observations</i>	
				<i>N° 4</i>	<i>N° 35</i>
Ac. aspartique	10,6	—	10,6	—	—
Thréonine	9,5	—	9,5	5,22	4,79
Sérine	11,0	—	11	5,20 6,19	6,18
Ac. glutamique	15,5	—	15,5	10,41	10,59
Proline	5,9	6,3	5,9	—	—
Glycocolle	4,4	—	4,4	3,46 3,26	3,40
1/2 Cyst.	2,2	2,9	2,2	—	—
Valine.	5,2	—	5,2	—	3,73
Méthionine	0,3	0,58	0,4	0,74-0,79	—
Isoleucine	6,4	—	6,4	—	—
Leucine	9,0	—	9,0	7,87	9,63
Tyrosine	8,7	8,8	8,7	4,8	—
Phénylalanine	5,9	6,1	5,9	—	12,9
Histidine	0,4	0,9	0,4	—	—
Lysine	5,5	4,0	5,5	—	—
Arginine	3,7	3,6	3,7	—	—
Tryptophane	1,7	1,4	1,7	—	—
Alanine	5,4	—	5,4	3,85	3,11

La protéine de BENCE JONES ne semble pas être de composition constante. Cependant quelques faits communs se dégagent et on retrouve sur les chromatogrammes le même aspect ; soit sur trois chromatographies (obs. n^{os} 2, 4 et 35), les acides



SCHEMA N° 7.

Après hydrolyse, les acides aminés de la protéine de Bence-Jones ont été séparés par Chromatographie. Il n'y a que peu de glycocolle en quantité appréciable, et la méthionine n'apparaît pas. (Obs. n° 34, M. Via...).

aminés suivants : Cystéine, Acide Aspartique, Acide Glutamique, Alanine, peu de Glycocolle, beaucoup Sérine, Thréonine, Valine, Phénylalanine, Leucine, Isoleucine, Histidine et Lysine, Proline.

Les taux de méthionine sont les suivants :

Obs. n° 2 : 0,72 % et 0,8 % après hydrolyse acide.

0,33 % après hydrolyse alcaline.

Obs. n° 4 : 0,74 % et 0,79 % (2 déterminations).

Ces pourcentages obtenus par méthode microbiologique sont faibles, mais constants, et se rapprochent sensiblement des valeurs publiées par DEVINE et par POLONOVSKI et

DELBARRE, qui ont 1 échantillon sur 9, dont le taux de méthionine est de 1,07, les autres valeurs se tenant autour de 0,30.

D. Températures de coagulation.

DECHAUME, dans sa thèse, a noté le phénomène qui a été qualifié plus tard de « coagulation par paliers ». Soit que le précipité obtenu s'accroisse lorsqu'on poursuit le chauffage de l'urine, soit qu'une urine, débarrassée du précipité déjà formé, contienne encore une protéine thermosoluble.

Les températures que nous avons déterminées, vont de 48°C (obs. n° 35), à 60°C (obs. n°s 19 et 38). Elles varient donc dans les limites normalement admises.

Signalons enfin qu'une pseudo-protéine de BENCE JONES a été quelquefois rencontrée (NIMEIJER et Coll., RIVER et Coll.). Son point de coagulation est voisin de 45-60°C. Mais elle n'est pas thermosoluble.

E. Origine et excrétion de la protéine de BENCE JONES.

On n'admet plus actuellement sa formation au niveau de l'intestin ou (MAGNUS-LÉVY) du rein altéré. Mais l'origine médullaire est probable pour MEYLER et MAGNUS-LÉVY pour qui la moelle osseuse produit normalement les protéines du sang.

Il était logique d'autre part de penser que **l'hyperprotéïnémie s'accompagnait de protéinurie**, mais cette proposition n'a pas été vérifiée. REINER et STERN ont même établi une corrélation inverse : la protéinurie Bence Jones est d'autant moins fréquente que la protéinémie est plus élevée.

L'opinion admise, en général, aujourd'hui est la suivante : dans le sang myélomateux existeraient deux protéines pathologiques : l'une de faible poids moléculaire est éliminée par voie rénale, l'autre de masse beaucoup plus élevée restant dans le sérum (HARDY et PUTNAM, SOULIER).

HARDY et PUTNAM utilisant l'isotope 13 du carbone pour marquer la paraprotéine sérique, ont constaté que sa durée de vie moyenne était de 17 jours ; alors que la protéine Bence Jones urinaire ne dépassait pas 25 heures. Ils en déduisent que cette dernière est éliminée au fur et à mesure de sa production. Avec du glycolcolle marqué de N 15 ils ne peuvent établir aucune liaison métabolique entre la protéine urinaire et la protéine sérique.

DENT, se basant sur la pauvreté en méthionine de la protéine Bence Jones, et sur la quantité considérable qui est synthétisée et éliminée quotidiennement, a envisagé la **nature virale** de cette protéine. Les virus élaborent seuls, avec cette abondance

une protéine pauvre en méthionine. Mais KNIGHT a démontré ultérieurement, que d'autres protéines virales pouvaient être riches en méthionine.

L'étiologie virale de la maladie de KAHLER reste donc encore à démontrer.

F. Spécificité.

DE WAELE et VAN DE VELDE ont soutenu l'hypothèse que la production à volonté de protéine Bence Jones est possible chez le rat et que sa thermosolubilité est en rapport avec la teneur de l'urine en bicarbonates.

BURTIN, HARTMANN et leurs collaborateurs ont montré que la présence de l'albumose n'était pas liée à la myélomatose mais qu'une technique plus fine que la détection à la chaleur, **l'immunochimie**, pouvait en retrouver dans certaines affections osseuses ou hépatiques et les cancers secondaires des os. Leurs travaux confirment l'opinion de MICHELI, KUHNE et MAGNUS-LÉVY qui l'ont décelée lors de cancers secondaires du squelette, de l'ostéomalacie, des endothéliomes et dans certains ostéosarcomes.

Sa valeur sémiologique est cependant indiscutable lorsque elle existe en grande abondance (BURTIN et Coll.).

V. — COMPARAISON DES DIAGRAMMES SÉRIQUES ET URINAIRES ÉTABLIS APRÈS ULTRA-CENTRIFUGATION ET ÉLECTROPHORÈSE

Electrophorèse.

Dans un cas (obs. n° 2) nous avons pratiqué l'électrophorèse simultanée des protéines sériques, urinaires, et des protéines du mélange : sérum plus urine, sur papier :

On retrouve dans l'urine une onde β un peu trop rapide, difficile à séparer d' α_2 par comparaison avec le sérum. Mais l'étude du diagramme provenant du mélange montre, sans discussion possible, qu'il s'agit de β -globulines, dont le pourcentage est alors fortement accru.

Dans la plupart des cas, nous nous sommes contentés de pratiquer simultanément sur deux bandes de papier disposées côte à côte dans la même cuve, l'électrophorèse sérique et urinaire et de comparer les tracés obtenus.

Le pic principal du diagramme urinaire répond exactement à l'onde paraprotéique du diagramme sérique, sauf dans un cas

(obs. n° 19). Il s'agit d'un myélome type β après examen en cuve. Sur papier le pic paraprotéique a une position intermédiaire entre les β et les γ d'un sérum normal témoin, et les protéines urinaires ne révèlent qu'une onde homogène qui, elle, migre franchement comme les β -globulines du sérum témoin. Ces urines renfermaient de la Bence Jones.

Un autre diagramme est discutable, mais l'onde urinaire de ce myélome type γ est seulement un peu plus rapide que l'onde sérique pathologique.

Après électrophorèse en cuve apparaissent les rapports suivants : Les mobilités des pics pathologiques sont du même ordre dans le sérum et l'urine. Par exemple :

Obs. n° 22 :	Urines 3,1	Sérum 2,8
— 44 :	— 1,5	— 1,2
— 34 :	— 1,4 et 2	— 1,8
— 35 :	— 2,9	— 3,4

Les variations sont ici faibles. Par contre, dans le cas n° 4, le pic protéique du sérum a une vitesse de

$$2,8 \text{ cm}^2 \text{ volt}^{-1} \text{ sec.}^{-1} \cdot 10^{-5},$$

alors que la vitesse du pic urinaire est de 0,8.

La comparaison des ultra-centrifugations se heurte à la même anomalie que nous avons déjà soulignée, les ondes pathologiques du sérum ont une constante relativement élevée, alors que, dans les urines, cette méthode d'examen met en évidence des substances de faible poids moléculaire (environ 3,5 unités Svedberg).

Pour résumer ce chapitre nous pouvons souligner la diversité de la composition des protéines de BENCE JONES dont le point commun est la pauvreté en méthionine. Cette protéine est présente lors de diverses affections, mais à l'état de traces décelables par des méthodes très sensibles. Son origine n'est pas encore précisée.

La comparaison des tracés électrophorétiques met en évidence le parallélisme de la formule protéique sérique et urinaire, impression détruite par l'étude des diagrammes d'ultra-centrifugation.

L'élimination urinaire des amino-acides libres est caractérisée par la présence d'asparagine et de tyrosine essentiellement, mais ce chromatogramme n'est pas spécifique de la maladie de Kahler.

Discussion et essai d'interprétation

L'unité de ce travail est réalisée par l'électrophorèse sur papier et les résultats de la ponction médullaire.

Dans les chapitres précédents, nous avons essayé de définir à propos de l'examen des protéines sériques et urinaires, un type commun à l'ensemble de nos observations.

Aidés maintenant de la clinique, et des examens complémentaires, nous étudierons certains cas particuliers s'écartant du schéma général.

Puis dans la deuxième partie de ce chapitre, nous essaierons de définir les caractéristiques de la maladie de Kahler, envisageant ensuite d'en étendre le cadre ou au contraire d'en séparer certaines observations d'après les critères que nous aurons adoptés.

I. — RAPPEL DES ÉLÉMENTS DE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE LA MALADIE DE KAHLER

A. Cytologie du myélome plasmocytaire.

La particularité à mettre en tête d'une courte description cytologique des myélomes plasmocytaires, est qu'il s'agit toujours **d'éléments pathologiques**, s'éloignant plus ou moins du plasmocyte vrai.

Ces anomalies portent à la fois sur :

— **La taille des éléments**, presque toujours augmentée, s'accompagnant d'une anisocytose importante : l'augmentation de taille porte le plus souvent sur le noyau, avec augmentation du rapport nucléo-cytoplasmique.

— **Le noyau lui-même**, qui présente des anomalies :

Noyaux bourgeonnants, mitoses nombreuses, normales ou pathologiques, disparition de l'aspect caractéristique en virgule de la chromatine, avec cette apparence plus diffuse de la substance chromatinienne. Les cellules bi- ou multi-nucléées ne sont pas rares.

— **Les nucléoles** sont fréquents et peuvent exister dans des cellules d'apparence adulte. Ils sont généralement volumineux, et souvent métachromatiques, rose lilas.

— **Le protoplasme**, de teinte variable, lilas, bleu pâle, ou, au contraire, acidophile, peut contenir des vacuoles, des granulations, ou des inclusions diverses.

BESSIS et SCEBAT en 1946, ont distingué trois variétés de myélome, suivant la prédominance d'un type cellulaire : les malformations sont d'autant plus nettes que la cellule en cause est plus jeune.

1. Plasmocytome pur : où 90 % des éléments sont des plasmocytes adultes, et dont les malformations sont, en définitive, peu importantes.

2. Plasmoblastome : BESSIS et SCEBAT classent dans ce type la dominante proplasmocytaire, ou plasmoblastique. A ces stades, les anomalies cellulaires sont peu nettes.

3. Réticulosarcome plasmocytaire avec de grandes cellules réticulaires sarcomateuses, dont l'orientation plasmocytaire se fait sentir par l'aspect caractéristique de la télophase des mitoses, la basophilie spéciale à la lignée plasmocytaire, et la juxtaposition d'éléments réellement plasmocytaires.

L'expérience de notre statistique nous a permis quelques remarques cytologiques, mises en regard des modifications électrophorétiques du sérum.

La forme décrite par BESSIS et SCEBAT sous le nom de réticulosarcomes plasmocytaires, est exceptionnelle, nous en avons un cas.

Les formes, qui nous ont semblé les plus fréquentes, sont les formes proplasmocytaires; qui ont été réunies avec les formes à plasmoblaste de BESSIS et SCEBAT.

Les formes à plasmocytes adultes viennent ensuite, mais la plupart du temps, nous avons noté un mélange des éléments jeunes et adultes, rendant impossible la description précise d'une dominante cytologique caractéristique.

De plus la jeunesse des cellules ne semble pas avoir de conséquence électrophorétique spéciale, mais un aspect particulier d'élément adulte est intéressant à souligner, car il nous a semblé être en interdépendance étroite avec une sécrétion exagérée des γ -globulines.

En effet, certains plasmocytes présentent un archoplasme, non pas chromophile, mais acidophile. Cette acidophilie s'étendant à une partie du cytoplasme juxta-archoplasmique, sous forme de vacuoles roses, de virgules, réunies par des sortes de canaux réalisant en fait l'ergatoplasme.

(Aspect remarqué en particulier dans les myélogrammes des observations n^{os} 15, 19, 32 et 33).

B. L'électrophorèse.

L'aspect du diagramme électrophorétique est bien défini par un pic migrant au niveau des β ou des γ -globulines, d'importance variable, atteignant souvent 50 % des protéines totales, mais dont la forme très étroite est caractéristique.

L'électrophorèse en cuve, n'apporte comme élément que la mobilité précise du pic paraprotéique, différente de celle des protéines habituelles.

C. L'ultra-centrifugation.

La formule du diagramme Kahlérien est plus délicate à exprimer, car un constituant anormal très important s'est superposé dans certaines observations, à un tracé peu perturbé par ailleurs.

D. Par ailleurs.

Nous pouvons retenir comme élément significatif la présence de la protéine de BENCE JONES, étant donné la méthode de détection peu sensible que nous utilisons. Mais le chromatogramme des acides aminés urinaires n'est pas caractéristique, bien que très homogène.

Tous ces éléments ne sont pas constants, et ils ne sont pas toujours associés. La ponction médullaire, par exemple, peut être faite en dehors d'une géode, et ne pas être caractéristique. Toutefois une formule protéique normale est très rare, et de plus, une plasmocytose médullaire totale de type myélomateux, ne va pas sans modifications protéiques sanguines, sauf exceptions rares.

Il est possible de poser le diagnostic de myélome multiple lorsqu'à des lésions osseuses notables, cliniques ou radiologiques, s'ajoute au moins un élément biologique.

Notre préférence irait à l'électrophorèse des protéines sanguines, précocement modifiées de façon significative, car, nous l'avons vu, le myélogramme peut être fait en dehors d'un nid plasmocytaire, et la protéine de BENCE JONES, si elle est pratiquement pathognomonique, est inconstante.

Mais un seul de ces éléments, associé à un syndrome ostéotrope avec lacunes localisées, suffit pour étayer le diagnostic.

II. — ETUDE ANALYTIQUE DES OBSERVATIONS EN FONCTION DE CES CRITÈRES

Nous les classerons en trois rubriques, suivant qu'il s'agit de dysglobulinémies Kahlériennes proprement dites, d'un groupe particulier de dysglobulinémies hémorragiques, malignes ou non, réservant le troisième paragraphe aux observations discutables.

A. La maladie de Kahler proprement dite.

33 observations présentent assez d'éléments pour faire avec certitude ce diagnostic, car, à des éléments radiologiques s'ajoutaient, soit une plasmocytose médullaire importante de type myélomateux, soit un tracé protéique convaincant, ou encore ces deux éléments simultanément.

Certaines, sans tracé électrophorétique net, ont pu être considérées comme des plasmocytomes, sur le vu du myélogramme, et la présence de protéine urinaire thermosoluble. C'est par exemple le cas de Mme Ann... (obs. n° 2).

La seule difficulté provient des tracés de l'électrophorèse dans trois myélomes confirmés comme tels par ailleurs.

L'obs. n° 3 est celle d'un myélome arrivé au stade clinique des tuméfactions osseuses dont la moelle sternale renferme 45 % de plasmocytes. Sans qu'un fait l'explique, le sérum de ce malade renferme 28,4 % d' α_2 -globulines.

L'obs. n° 10 a été classée parmi les plasmocytoses après myélogrammes (plasmocytes de type myélomateux). La radiographie du bassin révélait quelques images géodiques et en mie de pain. Son sérum ne renfermait que 15 % de γ -globulines.

Le taux des γ -globulines de l'obs. n° 20 est relativement faible après électrophorèse en cuve. Pourtant la moelle était envahie par des plasmocytes de type myélomateux. Cependant l'examen radiologique du squelette était muet.

B. Les dysglobulinémies malignes.

A l'opposé de ces cas de maladie de Kahler typiques, trois observations semblent individualiser un syndrome dysglobulinémique non myélomateux, en ce sens qu'il n'a jamais pu être mis

en évidence de lésions osseuses, et que la moelle osseuse ne contenait pas d'éléments plasmocytaires de type myélomateux.

OBS. n° 12 : Cette malade de 66 ans a présenté un syndrome hémorragique avec anémie (1.840.000 G. R., 4.400 G. B., dont 34 % de lymphocytes), légère splénomégalie, squelette intact à l'examen radiologique. Dans les urines ne se trouvent ni protéines, ni albumine de Bence-Jones.

Le myélogramme désertique ne contient que des éléments lymphocytaires atypiques (89 %) et un plasmocyte.

Electrophorèse sur papier : 44 % de γ -globulines, et en regard, clocher considérable de glycoprotéines. En cuve : γ -globulines de mobilité 1,7 : 38,4 % puis 37,4 %.

Réaction de Sia très positive.

Ultra-centrifugation : composant anormal très abondant de mobilité S = 12 U.S.

OBS. n° 21 : malade de 50 ans présentant une anémie modérée (3.680.000 G. R., 4.400 G. B., sans modification de la formule).

Hépto-spléno-adéno-mégalie. Dans la moelle 57 % d'éléments jeunes leucoblastiques. 2 plasmocytes.

Pas d'albuminurie.

Electrophorèse sur papier : 54 % de γ -globulines avec, en regard clocher considérable de gluco-protéines.

Tisélius : 50,3 % de γ -globulines de mobilité 1,2.

La ponction ganglionnaire révèle une grosse réaction plasmocytaire et plasmoblastique.

Ultra-centrifugation. Macroglobuline S = 16 U.S.

L'ultra-centrifugation des protéines sériques de ce malade a été pratiquée par le Dr WIEDEMANN que nous tenons à remercier.

OBS. n° 33 : Malade de 47 ans à propos duquel le diagnostic de polyarthrite chronique évolutive atypique a été posé il y a dix ans. Il est revu à l'occasion d'un syndrome hémorragique avec anémie (2.250.000 G. R., 14.000 G. B. dont 14 % de lymphocytes). Hépto-mégalie. Pas de protéinurie.

Electrophorèse sur papier : 62 % de γ -globulines avec clocher correspondant de glucidogramme.

Electrophorèse en cuve 60,4 % de γ -globulines, mobilité 1,2.

Ultra-centrifugation : 2 constituants anormaux de vitesse de sédimentation 7,3 et 11,3 U.S.

Myélogramme : Infiltration modérée d'éléments plasmocytaires atypiques dont le protoplasme présente des zones acidophiles qui semblent partir de l'archoplasme. D'autre part, abondance d'éléments lymphocytaires normaux.

C. Les observations particulièrement atypiques.

Ici, nous rapporterons l'observation, de type très intermédiaire, d'une malade, dont la nature exacte des éléments médullaires sera discutée, et chez qui on a vu apparaître progressivement des lésions osseuses lacunaires.

OBS. n° 29 : Mme R..., 39 ans (obs. publiée par CREYSSSEL, R. MOREL P. et CROIZAT P.). Anémique (1.500.000 G. R., 2.600 G. B.), mais pour 100 éléments blancs existent 400 érythroblastes : basophiles 6 %, polychromatophiles 20 %, orthochromatiques 47 %, G. R. nucléés 27 %.

Le myélogramme : prolifération d'éléments atypiques érythroblastiques, presque tous basophiles, avec, à un degré moindre, des éléments réticulaires et réticulo-plasmocytaires.

Dans les urines : protéinurie sans albumine de Bence-Jones.

Radiographie du squelette : destruction osseuse de type myéломateux au niveau de l'aile iliaque droite.

Électrophorèse sur papier : pic paraprotéique au niveau des γ -globulines (19,6 %), confirmé par l'électrophorèse en cuve (22,9 % mobilité 1,8).

Ultra-centrifugation : constituant S_2 très peu abondant.

N. B. : On a discuté à propos de certains éléments médullaires, leur nature para-pro-érythroblastique ou para-plasmoblastique.

L'observation suivante pose le problème du tracé électrophorétique de type Kahlérien en dehors du myélome.

OBS. n° 15 : Mlle Gr... A propos de cette observation, on a évoqué la polyarthrite chronique évolutive. Chez cette jeune fille de 21 ans, l'électrophorèse suggérait un myélome de type β . L'ultra-centrifugation était normale, pas de protéinurie. Mais le myélogramme, riche, est à la limite de l'aspect décrit dans la polyarthrite évolutive (MOREL dans la thèse de Mme le Dr PATET).

La participation réticulo-endothéliale est très importante, les plasmocytes sont atypiques, à noyaux denses de type endothélial, se rapprochant des plasmocytes flammés d'UNDRITZ. Certains semblent de type sécrétoire avec inclusion azurophile et grosses vacuoles. Ce ne sont pas ces éléments que l'on voit habituellement dans le myélome mais on les trouve dans les moelles de réticulo-sarcomes osseux.

Dans cette observation, l'électrophorèse aussi bien que le myélogramme laissent planer la menace d'une affection maligne, contredits en cela par la clinique, l'ultracentrifugation, et l'évolution actuelle.

GELIN, à propos de myélomes atypiques, a tenté de confronter radiologie, histologie et clinique. Dans une observation publiée par cet auteur, 70 % des éléments médullaires étaient constitués de cellules de MOTT, riches en granulations azurophiles ; et, s'il n'existait pas d'hyperprotidémie, la dysprotidémie était flagrante, de type γ .

Ainsi serions-nous, par analogie, conduit à **discuter l'origine plasmocytaire des γ -globulines**, et des protéines tumorales, par les plasmocytes de type sécrétoire.

De nombreux arguments tant cliniques qu'expérimentaux et cyto-chimiques, ont été avancés à l'appui de cette hypothèse. APITZ résume l'opinion générale en déclarant que « les plasmocytes sont physiologiquement formateurs des protéines et conservent cette propriété aussi dans la plasmocytose ».

DI GUGLIELMO, au terme d'une excellente étude comparative des arguments pour ou contre l'origine plasmocytaire des globulines, constate simplement qu'il n'est pas douteux que les plasmocytes soient hautement fonctionnels et principalement en

relation avec le métabolisme des globulines, mais qu'il est critique d'en faire le siège de l'origine et de la sécrétion des globulines.

Nous avons essayé, dans le cadre des plasmocytoses réactionnelles, de mettre en évidence une corrélation entre le taux de γ -globulines, déterminé par électrophorèse sur papier du sérum et la fréquence dans le myélogramme de tel ou tel élément plasmocytaire, par exemple le plasmocyte adulte, l'endothélio-plasmocyte, ou la cellule de MOTT.

Cette étude, conduite avec les méthodes statistiques, s'est révélée décevante. Nous n'avons pas pu trouver de rapport : entre l'élévation des γ -globulines d'un sérum, et l'importance de la réaction plasmocytaire du myélogramme correspondant. On ne pouvait noter qu'une « orientation » des graphiques de corrélation, les γ -globulines s'élevant en fonction des pourcentages croissant des plasmocytes médullaires de la série dite sécrétoire.

Il est nécessaire de poursuivre ce travail avant de pouvoir en tirer des conclusions valables.

L'électrophorèse de ces observations, qui donne le diagramme d'une dysprotéïnémie, est le seul lien d'unité entre elles.

L'ultra-centrifugation met en évidence des anomalies de type différent. On pourrait à la rigueur rapprocher deux d'entre elles (obs. n^{os} 12 et 33). Mais les examens médullaires ne sont pas semblables.

Il s'agit là de manifestations dysprotéïques. A quel examen accorder ici une valeur diagnostique ?

La radiologie est inconstante, la protéinurie nulle ou minime, le myélogramme riche d'évocations, mais il décrit des éléments très atypiques de valeur variée et extrêmement discutables.

L'ultra-centrifugation serait déjà plus utilisable, mais il est délicat de parler de macro-globulinémie à propos de l'observation n^o 12 où l'onde pathologique a une vitesse de sédimentation égale à 12 U.S.

On pourrait tenter de faire de chacun de ces malades un type pathologique particulier. Mais ils ont en commun le tracé électrophorétique de leur sérum.

Devant l'insuffisance des examens classiques, nous serions volontiers tentés d'accorder à cette électrophorèse une valeur séméiologique certaine et de faire ainsi entrer ces observations dans le cadre des dysprotéïnémies, sans pour autant prétendre les classer parmi les maladies de Kahler.

D'autre part que penser de ces malades (obs. n^{os} 15 et 33) dysprotéïnémiques l'un et l'autre et dont les myélogrammes ne sont comparables que par certains de leurs éléments.

III. — ESSAI D'INTERPRÉTATION

Le diagnostic positif de la maladie de Kahler est possible lorsque tous les éléments réunis concordent.

Que faire dans le cas où seule l'électrophorèse oriente vers le plasmocytome, les examens complémentaires étant incertains ?

Doit-on étendre le cadre des plasmocytomes ?

Les formes typiques sont les plus fréquentes. Nous ne reviendrons pas sur les éléments bien connus de ce tableau. Les formes atypiques ou incomplètes peuvent être telles de par la carence de la radiologie, de la cytologie, ou de la formule protéique, mais nous devons envisager les états frontières.

Atypies radiologiques.

L'atteinte osseuse, diffuse ou localisée, de la myélomatose peut manquer, soit qu'il s'agisse d'un plasmocytome osseux solitaire qui est passé inaperçu, ou que le squelette soit indemne.

Les atteintes localisées ont été bien décrites. BERNER en 1947 a décrit l'atteinte radiologique d'une seule vertèbre, avec myélogramme peu perturbé. Nous avons parmi nos observations, plusieurs exemples d'atteinte vertébrale isolée (n^{os} 2, 3, 9, etc...).

CODOUNIS pense que 12 % des myélomes n'ont pas d'atteinte radiologique nette. DI GUGLIELMO fait entrer dans ce cadre l'ostéoporose qu'il a notée chez un de ses malades.

Les localisations extra-médullaires de plasmocytomes sont connues et bien décrites, les ganglions peuvent être atteints seuls. Dans cette catégorie entrerait l'observation n^o 21 dont la moelle est à peu près indemne mais où la ponction ganglionnaire prouve l'envahissement plasmocytaire.

Les réactions plasmocytaires.

NORDENSEN, STÖGER, MARCHAL et MALLET, ont étudié à plusieurs reprises ce sujet, et au cours des métastases décrivent des cellules plasmocytaires comparables aux plasmocytes myélomateux ; P. MOREL a décrit dans le même cadre, deux autres lignées plasmocytaires à côté des plasmocytes vrais : le pseudo-plasmocyte d'irritation, et la lignée endothélio-plasmocytaire.

Certains auteurs ont pu même se demander, à propos de plasmocytoses élevées lors de métastases médullaires, si de telles

réactions plasmocytaires ne pourraient pas aboutir à un myélome indiscutable ; mais l'aspect électrophorétique des protéines sériques lors de manifestations cancéreuses n'est pas comparable au diagramme Kahlérien. En particulier, il n'existe pas ce pic paraprotéique que nous avons rencontré si souvent.

Anomalies de la formule protéique.

Il s'agit là essentiellement d'un syndrome individualisé par WALDENSTRÖM en 1944 a propos de 3 cas. En 1952, il pouvait en décrire 19 observations. QUATTRIN en 1954, a fait une étude extrêmement subdivisée de ce syndrome. L'unité en est réalisée en dehors du syndrome hémorragique par la présence de protéines de très haut poids moléculaire décelées à l'ultra-centrifugation par leur constante de sédimentation très élevée, environ 20 unités Svedberg.

L'électrophorèse est superposable exactement au tracé Kahlérien.

La réaction de SIA est très positive.

Après la ponction sternale, on décrit l'envahissement médullaire par de petits éléments lymphocytaires ou hystio-lymphocytaires superposables aux petites cellules réticulo-endothéliales de ROHR.

WALDENSTRÖM sépare cette affection du **purpura hyperglobulinémique**, maladie chronique, caractérisée essentiellement par des pétéchies et des ecchymoses prédominant aux membres inférieurs, sans trouble net de la crase sanguine, une anémie légère. Le myélogramme est souvent normal.

Par contre l'étude électrophorétique des protéines sériques caractérise une augmentation des γ -globulines comparable, de par son pourcentage, aux pics des dysprotéïnémies Kahlériennes, mais dont l'aspect est différent. Il s'agit là d'une onde à base large et arrondie, très différente du pic myélomateux.

L'ultra-centrifugation ne décèle pas de macro-globulines, mais une élévation du constituant de vitesse $S = 7$.

Cet auteur décrit encore l'**hyperglobulinémie essentielle bénigne**.

A quel type rattacher l'affection cliniquement maligne de l'observation n° 12 ? Il ne s'agit pas de purpura hyperglobulinémique dont la moelle est normale. Mais l'ultra-centrifugation du sérum de cette observation s'écarte notablement du type décrit.

Il est vrai que la notion de macroglobuline s'étend actuellement. Certains auteurs (WIEDEMAN), considèrent comme telles des globulines dont la constante de sédimentation est comprise entre 14 et 22.

Nous considérerions volontiers cet exemple comme une observation limite. Appartenant au syndrome de Waldenström par sa malignité, son électrophorèse et la positivité de la réaction de SIA ainsi que par le pourcentage élevé d'éléments lymphoïdes observés dans le myélogramme, mais s'en écartant, quoique de bien peu, par son diagramme d'ultra-centrifugation.

De plus nous rattacherions cette observation au cadre élargi de la plasmocytose en la comparant aux données de l'obs. n° 19. Myélome indiscutable d'après son myélogramme, son électrophorèse, l'aspect radiologique du squelette, associé à 9 % de protéines sériques et à 0,7 % de protéines de BENGE JONES, et dont le diagramme d'ultra-centrifugation est superposable au précédent. D'autant que les complications hémorragiques de la maladie de Kahler ont été décrites.

Nous nous rangerions volontiers à l'opinion de DI GUGLIELMO que nous avons bien souvent consulté tout au long de ce travail, qui, en quelque sorte, dans le cadre de la maladie à plasmocytes établit trois stades :

- Chronique avec le syndrome de Waldenström.
- Subaigu, comprenant le plasmocytome et ses variantes typiques.
- Aigu, les leucémies à plasmocytes.

LAYANI, ASCHKENAZY et BENGUI émettent au terme de leur étude des cas limites, l'opinion suivante :

« Malgré son autonomie, le syndrome de Waldenström est étroitement apparenté à la maladie de Kahler, surtout à sa forme diffuse, avec laquelle il a en commun l'existence d'une ostéoporose avec possibilité de fractures, et un diagramme électrophorétique tout à fait typique des myélomes... En dehors des cas schématiques décrits par WALDENSTRÖM, il existe des variétés mineures situées à mi-chemin entre les myélomes et les formes précédentes ». Nous ne pouvons que nous ranger à leur opinion.

En conclusion, il semble actuellement qu'on puisse parler de **dysglobulinémie maligne**, le problème étiologique n'en est pas résolu. Cette dysglobulinémie se présente sous des formes tumorales différentes : La maladie de Kahler et les dysglobulinémies du type décrit par WALDENSTRÖM, qu'il est nécessaire de distinguer malgré des éléments communs.

CONCLUSIONS

I. — Nous avons réuni 41 observations de dysprotéinémies, comprenant 36 myélomes multiples et 5 affections discutables, dont trois entrent dans le cadre des dysglobulinémies malignes hémorragiques de WALDENSTRÖM.

1. L'électrophorèse sur papier et en cuve des protéines sériques met en évidence :

— Un pic protéique anormal, variable suivant les observations, dont la mobilité est comprise entre

$$0,7 \text{ et } 3,4 \text{ cm}^2 \text{ volt}^{-1} \text{ sec.}^{-1} \cdot 10^{-5}$$

son taux pouvant atteindre 75 % des protéines totales.

— A ce pic paraprotéique, correspond un pic glucoprotéique, alors que le lipidogramme semble normal.

2. L'ultra-centrifugation présente dans trois cas, un constituant protéique insolite, très abondant, dont la vitesse, de l'ordre de 13 unités Svedberg, indique le poids moléculaire élevé.

3. Parmi les protéinuries, nous avons observé 8 protéines de BENCE JONES. L'étude des acides aminés qui entrent dans leur constitution met en évidence leur pauvreté en méthionine, et leur composition variable suivant les échantillons étudiés.

4. Le chromatogramme des acides aminés urinaires libres, révèle, en dehors des acides aminés normalement éliminés, de la Tyrosine, de l'Asparagine, et dans quelques cas, des acides aminés soufrés et à longues chaînes, sans qu'il soit possible d'attribuer à ce chromatogramme une valeur pathognomonique.

II. — Tous les cas observés ne sont pas typiques, et laissent prévoir l'existence d'un syndrome dysglobulinémique, pouvant être subdivisé, principalement en fonction des résultats de l'ultra-centrifugation des protéines sériques, en dysglobulinémies comprenant ou non des macroglobulines sériques.

Le Doyen,
H. HERMANN

Le Président de la Thèse.
P. CROIZAT

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 8 Novembre 1955.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
A. ALLIX.

BIBLIOGRAPHIE

Une bibliographie très détaillée est exposée dans la monographie de R. DI GUGLIELMO, *I Plasmocitomi*, Abruzzini Ed. Rome 1955 ; dans l'ouvrage de POLI (E.): *Fisiopatologia, e Clinica del Pro-tido plasma*, Delphino Ed. Milano, 1951, et dans la revue *Plasma*, 1^{re} Année, N° 4, pp. 538-585, (1953).

- ADAMS (W. S.), ALLING (E. L.), LAWRENCE (J. S.). — Multiple myeloma : its clinical and laboratory diagnosis with emphasis on electrophoretic abnormalities. *Am. J. of. Medicine*, **6**, 141, (1949).
- ADAMS (W. S.), BRIAND (W. H.), BASSET (S. H.). — Method of human plasmapheresis. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, N. Y., **80**, 377, (1952).
- AGREN (G.). — The amino acid composition of Bence Jones protein. *Act. Chem. Scandinav.*, **6**, 1232, (1952).
- ANTWEILER (M. J.). — Die quantitative Electrophorese in der Medizin, *Springer Ed., Heidelberg*, (1952).
- APITZ (K.). — Die Störungen des Eiweissstoffwechsels bei plasmocytomträgern. *Klin. Wschr.*, **19**, 1058, (1940).
- ABDRY (R.). — Exploration clinique des protéines sériques. *Ann. Biol. Clin.*, **10**, 575, (1952).
- Le fractionnement des protéines plasmatiques. *Biol. Médic.*, **44**, 662, (1955).
- ARMSTRONG (J. B.). — A study of renal function in patient with multiple myeloma. *Am. J. Med. Sc.*, **219**, 488, (1950).
- AZERAD (E.), GRUPPER (Ch.), CHAPUIS (G.). — Myélome à plasmocytes vacuolés (cellules de Mott, troisième cas). *Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris*, **66**, 97, (1950).
- BAYARD (E. D.), WARREN (A. D.). — Amyloïdose compliquant un myélome. *Med. Clin. North. Amer.*, **34**, 1151, (1950).
- BAYER (G.). — La formation des éléments du sang chez les malades avec plasmocytome. *Deutsch. Arch. für Klin. Med.*, **200**, 579, (1953).
- BAYRD (E. D.), HECK (F. J.). — Multiple myeloma, a review of 83 proved cases. *J. A. M. A.*, **133**, 147, (1947).
- BÉNAZET (F.), LANGUILLON, RAOULT. — Leucémie plasmocytaire avec tumeurs osseuses. *Soc. Fr. Hémat. Séance du 21-XII-1950. Sem. Hôp.*
- BENCE JONES (H.). — On a new substance occurring in the urine of a patient with mollities ossium. *Philosoph. Tr. Roy. Soc. London*, **1**, 55, (1948).

- BERNARD (J.), INCEMANN (S.), ZARA (M.), CHRISTOL (D.). — La dysglobulinémie maligne hémorragipare. *Rev. Hémat.*, **7**, 264 (1952).
- BERTOYE (H.). — Contribution à l'étude de la maladie de Bence Jones. *Revue de Médecine*, **24**, 257, (1904).
- BESSIS (M.), SCEBAT (L.). — Etude des cellules de la série plasmocytaire. Etude cytologique du myélome. *Rev. Hémat.*, **1**, 447, (1946).
- BESSIS (M.). — Etude sur les cellules des leucémies et des myélomes au microscope à contraste de phase et par la méthode de l'ombrage. *Revue Hémat.*, **4**, 364, (1949).
- BISERTE (G.). — Thèse Lille, (1951).
- BLACKMANN (S. S.), BARKER (W. H.), BUELL (M. W.), DAVIS (B. O.). — On the pathogenesis of renal failure associated with multiple myeloma; Electrophoretic and chemical analysis of protein on urin and blood serum. *J. Clin. Invest.*, **23**, 163, (1944).
- BLADES (A. N.). — Cryoglobulinemia in multiple myelomatosis. *Brit. Med. J.*, **1**, 169, (1951).
- BLUEFIELD. — Myeloma-Cases. *N. Y. Med. Soc. J.*, **47**, 426, (1950).
- BONSDORFF (B.), GROTH (H.), PACKALEN (T.). — *Folia Haemat.*, **59**, 184, (1938).
- BOUSSER (J.), VERNANT (P.). — Les maladies de KAHLER sans manifestations osseuses cliniques. *Sang*, **21**, 28, (1950).
- BOUSSER (J.), VERNANT (P.), POISSON (J.). — Les néphropathies du myélome multiple. *Sang*, **21**, 50, (1950).
- BOZZOLO. — Sulla malattia di KAHLER. *Clin. med. Ital.*, **37**, 1, (1898).
- BURTIN (P.), GRABAR (P.). — Etude immuno-chimique de la sérum-albumine dans les néphroses lipoidiques. *Sém. Hôp. Paris : Arch. Biol. Méd.*, **30**, B. 10, (1954).
- BURTIN (P.), HARTMANN (L.), FAUVERT (R.), GRABAR (P.). — Etude des critères d'identification de la protéine de Bence-Jones : valeur de la méthode immuno-chimique. *C. R. Ac. Sciences*, 18 Juillet 1955.
- BRUCE (K. W.). — Multiple myeloma Occurring in Jaws : Study of 17 cases. *Oral. Surg., Oral Med. a. Oral Path.*, **6**, 729, (1953).
- CACHIN (M.), BLASS (J.), DURLACH (J.). — Paper microchromatographie in studying aminoacids in the blood in cirrosis of Liver. *J. Practiciens*, **64**, 368, (1950).
- CARRIE (P. A.), BOUSSER (J.), CATINAT (J.), BLANCHET. — Leucose aiguë à plasmocytes sans altérations squelettiques. *Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp.*, **65**, 691, (1949).
- CHURG (J.), GORDON (A. J.). — Multiple myeloma. Lesions of the extra-osseous hematopoietic system. *Am. J. Clin. Path.*, **20**, 934, (1950).
- CODOUNIS (A.). — La myélomatose multiple : ses formes atypiques. *Union Méd. du Canada*, **78**, 1059, (1949).
- Sur les variations de l'équilibre protéique au cours de la myélomatose multiple. Théorie de défense de l'organisme. *Sang*, **19**, 581, (1948).
- CREYSSSEL (R.), MATRAY (F.), LOISELET (J.). — La chromatographie sur papier en pédiatrie. *Pédiatrie*, **10**, 177, (1955).

- CREYSSEL (R.), MOREL (P.), CROIZAT (P.). — Une hémopathie complexe maligne avec dysprotidémie. *Sang*, **26**, 392, (1955).
- CROKAERT (R.), VERBRUGGEN (H.), BIGWOOD (E.). — Protéine de Bence Jones et γ -globulines. *Exp. Med. Sur.*, **12**, 179, (1954).
- COSTE (F.), JAYLE (M. F.), DELBARRE (F.). — Modifications de la formule glycoprotéidique du sérum sanguin au cours de la maladie de KAHLER. *Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris*, **66**, 450, (1950).
- CUGUDDA (A.). — Plasmocitoma con crioglobulinemia e trombosi arteriose e venose multiple. *Min. Med.*, **2**, 205, (1952).
- DE BRUX (J.). — Les myélomes. Etude histo-biologique. *Rev. Rhum. et Maladie Ostéo-artic.*, **16**, 394, (1949).
- DELBARRE (F.). — Recherches biochimiques sur la maladie de KAHLER. (A propos de l'étude humorale de 22 cas). *Sem. Hôp. Paris*, **25**, 2687, (1949).
- La maladie de KAHLER. Etude clinique et biologique. *Rev. Rhum. et Mal. Ostéo-art.*, **16**, 375, (1949).
- Le Myélome multiple ou Maladie de KAHLER. *Thèse*, Paris. (1951). (Dact.).
- DECHAUME (T.). — *Thèse*, Lyon, (1903).
- DE NICOLA (P.), WUNDERLY (Ch.), WUHRMANN (F.). — Sulla caratterizzazione elettroforetica dei mielomi (Osservazioni in 79 casi di beta- e gamma mielomi). *Progr. Med.*, **6**, 600, (1950).
- DE NICOLA (P.), TARTARA (A.). — Sindrome emorragica con anti-coagulanti in circolo, iperglobulinemia, ed epatosplenomegalia. *Haemat.*, **38**, 1197, (1954).
- DENT (C. E.), ROSE (G. A.). — The Bence Jones protein of multiple myelomatosis: its methionine content and its possible significance in relation to the aetiology of the disease. *Biochem. J.*, **44**, 610, (1949).
- DENT (C. E.). — Applications (of paper chromatography) to studies of amino acid and protein metabolism. *The Biochem. J.*, **42**, 4, (1948).
- DEVINE (J.). — An Analysis of Bence Jones proteins. *Biochem. J.*, **35**, 433, (1941).
- DE WAELE (H.), VAN DE VELDE (J.). — L'albumine de Bence-Jones est-elle une entité? *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **28**, 100, (1946).
- DIALER (K.). — Characterisation of pathological serum-proteins with the ultra-centrifuge. *Z. Elektrochem.*, **55**, 525, (1951).
- DIETER GRUNER (H.). — Paper chromatographic analysis of a myelomic protein substance in a zeta plasmocytoma. *Z. Ges. Inn. Med.*, **7**, 93, (1952).
- DI GUGLIELMO (R.). — I Plasmocitomi. Abruzzini Ed. 1955.
- Analisi di undici casi di plasmocitoma. *Riv. Crit. Clin. Med.*, **51**, 215, (1951).
- DI GUGLIELMO (R.), CORTI (L.). — Plasmocitoma extraosseo a lento sviluppo e a generalizzazione terminale. *Haematologica*, **33**, 1023, (1950).
- DI GUGLIELMO (R.). — Inquadramento citologico e clinico dei plasmocitomi. *Sett. Med.*, **37**, 107, (1949).

- DI GUGLIELMO (R.), SALVINI (L.). — Due casi di tipica macroglobulinemia di Waldenström. *Il Progr. Med.*, **10**, 260, (1954).
- DIRR (K.), GOTZ-SCHRIEVER (G.). — Myelom und Nephrose eiweiss im Urin und ihre Erkennung durch Aminosäurebestimmung. *Z. für Klin. Med.*, **145**, 186, (1949).
- DUBUISSON-COURTOT. — Amino-acides et peptides urinaires. *Thèse*, Lille, (1952).
- DUSTIN (J. P.), LEONIS (J.). — A propos d'une cryoglobuline. *Exp. med. Surg.*, **12**, 192, (1954).
- ENSELME (J.). — Sémiologie électrophorétique des protéines du plasma sanguin. *Camugli Ed.*, Lyon, (1955).
- ELLINGER (A.). — Das Vorkommen des Bence Jonesschen Körpers. *Dtsch. Arch. Clin. Med.*, **62**, 255, (1899).
- EVANS (W.), JOHNSTON (G. A. W.). — Multiple myeloma. *Proc. R. Austr. Coll. Phys.*, **4**, 3, (1949).
- FAUVERT (R.), HARTMANN (L.). — Détermination qualitative et quantitative des protéines urinaires. *Journal d'Urologie*, **59**, 40, (1953).
- FERRARI (M.). — Problemi clinici ed anatomo-patologici della proteinuria di Bence-Jones nelle malattie neoplastiche plasmacellulari. *Med. Internazionale*, **60**, 9, (1952).
- FERRARI (M.), CHIARIONI (T.). — Sui rapporti fra calciuria e proteinuria di Bence-Jones. *Quad. Scientif. de Lo Smeraldo*, 15 marzo (1953).
- GAUTHIER (A.), MAURICE (P. A.). — Purpura hyperglobulinémique de Waldenström et maladie de Besnier-Bæk-Schaumann. *Schweitz. Med. Wschrft.*, **83**, 1110, (1953).
- GELIN (G.). — Myélomes atypiques. *Sem. Hôp. Paris*, **28**, 1256, (1952).
- GELIN (G.), BENSMAINE (B.). — Image granitoréticulaire du crâne au cours d'un myélome plasmocytaire. *Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris*, **66**, 134, (1950).
- GELIN (G.), LEVY (G.). — Myélome à cellules de Mott. *Bull. Soc. Méd. Hôp. Paris*, **66**, 1485, (1950).
- GELIN (G.), MIRALLES. — Myélome à plasmoblastes. *Sem. Hôp. Paris*, **27**, 405, (1950).
- GESCHIKTER (C. F.), COPELAND (G. L.). — Multiple myeloma. *Arch. Surg.*, **16**, 807, (1928).
- GILBERT-DREYFUS, ZARACHOVITCH, SAVOIE (J. C.). — Myélome avec cryoglobulinémie sans altérations radiologiques. *Bull. Mém. Soc. Hôp. Paris*, **65**, 812, (1949).
- GRABAR (M. P.). — Etude des gamma-globulines. *Soc. Fr. de Thérapeutique et de Pharmacologie*. Séance 19 Mai 1954.
- GRABAR (P.), BURTIN (P.). — L'analyse immuno-électrophorétique : premiers résultats obtenus avec des sérums pathologiques. *Presse Méd.*, **63**, 804, (1955).
- HAYES (D. W.), BENNETT (W. A.), HECK (F. J.). — Extra-medullary lesions in multiple myeloma. Review of literature and pathologic studies. *Arch. of Pathol.*, **53**, 262, (1952).
- HILL (N. P.), VAN ZANDT HAWN (C.). — Plasmacytic Leukemia. *New Engl. J. Med.*, **243**, 769, (1950).

- HULE (V.), WIDERMANN (D.). — Über ein Fall von Macroglobulinämie Waldenström. *Folia Haemat.*, **72**, 374, (1954).
- ISHIRA (I.), KOMORI (Y.). — An unidentified amino-acid excreted in larges amounts in the urin of leukemic patients. *Igaku to Seibutsug*, **22**, 4, (1952).
- JANSSEN (L. W.) and GORMSEN (H.). — Changes in the composition of the human serum in certain bone-marrow diseases. (Multiple Myeloma); in JANSSEN: Electrophoretic Studies on Serum Proteins. *North-Holland Publish. Comp. Amsterdam*, (1951).
- JORDAN (H. E.). — L'origine et le destin des plasmocytes. Etude histologique comparée des plasmocytes de ganglions lymphatiques normaux et provenant de tumeurs du myélome multiple. *Anat. Records*, **119**, 325, (1954).
- KABELITZ (H. T.). — Plasmocytes et métabolisme des albumines. *Act. Hemat.*, **5**, 232, (1951).
- Plasmocytes et échanges protéiques. *Il Lattante*, **25**, 697, (1954).
- KAHLER (O.). — Zur symptomatologie des Multiplen Myeloms, Beobachtung von Albumesurie. *Prag. Med. Wschr.*, **14**, 33, (1899).
- KEKWICK (R. A.). — The serum proteins in multiple myelomatosis. *Bioch. J.*, **34**, 1248, (1940).
- KOHLER (M. L.), LAUR (A.). — Osteosklerose bei Plasmozytom. Bericht ueber einen Fall. *Fortschr. Röntg.*, **72**, 714, (1950).
- KUNKEL (H. K.), SLATER (R. J.), GOOD (R. A.). — Relation between certain myeloma proteins and normal gamma globulin. *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.*, **76**, 190, (1951).
- KUMATORI (T.). — Etude de la relation entre les plasmocytes médullaires et les gamma-globulines du sérum sanguin dans les états pathologiques. *Act. Haemat. Japon.*, **16**, 304, (1954).
- LAYANI (F.), ASCHKENASY (A.), BENGUI (A.). — Macroglobulinémie avec lésions du squelette. *Presse Médicale.*, **63**, 44, (1955).
- LAYANI (F.), GRABAR (P.), ASCHKENASY (A.), BUSSARD (A.), LEMÉTAYER (E.). — Etude électrophorétique et immunologique de deux cas d'hyperplasie plasmocytaire avec hyperglobulinémie. *Sang*, **21**, 62, (1950).
- LAWRENCE (S. H.), FORTNER (H. C.). — Acute plasmacell leukemia without localized bone lesions. Report of a case with autopsy observations. *Arch. of Pathol.*, **52**, 384, (1951).
- LEHMANN (Mme C.). — Les néphropathies du myélome multiple des os. *Thèse*, Lyon, (1949).
- LERNER (A. B.), WATSON (C. J.). — Studies of the Cryoglobulins. *Am. J. Med. Science*, **214**, 410, (1947).
- LEWIS (L.), PAGE (I. M.). — Serum proteins in multiple myelomatosis. *Am. J. Med.*, **27**, 670, (1954).
- MAGNUS LEVY (A.). — Multiple Myelome. *Acta Med. Scand.*, **95**, 217, (1938).
- Amyloidosis un multiple myeloma. *J. Mt. Sinai Hosp.*, **19**, 8, (1952).

- MANDEMA (E.), VAN DER SCAAF (P. C.), HUISMAN (T. J. H.). — Investigations on the amino acid composition of a macroglobulin and a cryoglobulin. *J. of Lab. Clin. Med.*, (St-Louis), **45**, 261, (1955).
- MARCHAL (G.). — Sur trois cas de leucoses à plasmocytes. *Sem. Hôp. Paris*, **27**, 3211, (1951).
- MARCHAL (G.), MALLET (L.). — Corrélations entre les myélomes et les métastases ostéomédullaires des cancers. *Rev. Hémat.*, **111**, 363, (1948).
- MARCHAL (G.). — Les leucoses aiguës. Considérations sur les leucémies à plasmocytes. *Expansion scientifique Ed.* (1948.)
- MARCHAL (G.), MALLET (L.). — Conceptions actuelles sur les myélomes multiples des os. *Sang*, **21**, 1, (1950).
- MARTIN (N.). — The electrophoretic pattern of the circulating proteins. *Proc. Royal Soc. Med.*, **41**, 220, (1948).
- Mc FARLANE (A. S.). — The behaviour of urinary proteins in the ultracentrifuge. *Biochem. J.*, **29**, 1202, (1935).
- Mc INTYRE (W.). — A case of mollities ossium, accompanied with urine strongly charged with animal matter. *Med. Chir. Tr.*, **33**, 211, (1850).
- MONTREUIL (J.), KHOUVINE. — Dosage des acides aminés par les complexes colorés, par dicétohydrindélide-hydrindamine-sels de cadmium. *Soc. Chimie Biol.*, **36**, 424, (1954).
- MOREL (P.). — Plasmocytes et pseudo-plasmocytes médullaires au cours des néoplasmes. *Le Sang*, **20**, 603, (1949).
- MOREL (P.), JACQUEMET (L. R.). — Etude du myélogramme dans le cancer du poumon. *Auvergne Médicale*, Novembre 1950, N° 5.
- MOREL (P.), BRETIN (P.). — Le myélogramme dans les cancers. *Canugli Ed. Lyon*, (1955).
- Mc MAHON. — Atypical amyloidosis in multiple myeloma : case report. Symposium on amyloidosis. *U. S. Armed Forces Med. J.*, **2**, 727, (1951).
- MILHAUD (G.), GODBERG (G.). — La réaction à l'eau distillée (Sia) dans l'analyse des hyperglobulinémies. *Schw. med. Wschr.*, **80**, 1036, (1950).
- MILLER (G. L.), BROWN (C. E.), ESHELMAN MILLER (E.), EITELMAN (E. S.). — An electrophoretic study on the abnormal plasma proteins in multiple myeloma. *Cancer Res.*, **12**, 283 e 716, (1952).
- MILLIEZ (P.), MALLARMÉ (J.). — Leucose à plasmocytes. Confrontation avec la maladie de KAHLER et la leucose leucoblastique. *Sem. Hôp. Paris*, **18**, 763, (1949).
- NAUNYN. — *Deutsche Med. Wschr.*, 217, (1898).
- NIEMEIJER (J. A.), STAPERT (F.). — Proteins in urine. *Acta Brevia Neerlandica Physiologia, Pharm., Microb.* **17**, 25, (1949).
- OLMER (J.), ABRIGNOLI (E.). — Leucémies à tumeurs et maladie de KAHLER. *Presse Méd.*, **60**, 92, (1952).
- OSSERMAN (E. F.), LAWLOR (D. P.). — Les hydrates de carbone dans les protéines anormales du sérum et de l'urine de myélomes multiples. *Science*, **120**, 715, (1954).
- PAPASTAMATIS (S. C.), KENCH (J. E.), WILKINSON (J.). — Aminoacid composition of Bence-Jones protein. *Nature*, **164**, 961, (1949).

- PEDERSEN (K. O.). — Ultracentrifugal studies on serum and serum fractions, 178 pages. *Almqvist et Wiksells éd.* Upsala (1945).
- PERLZWEIG (W. A.), DELRUE (G.), GESCHICKTER (C.). — Hyperproteinemia associated with multiple myelomas. Report of an unusual case. *J. A. M. A.*, **90**, 755, (1929).
- PLAUCHU (M.), LEJEUNE (E.), MOREL (P.). — Un nouvel aspect de la maladie à plasmocytes : la réticulose plasmocytaire splénomégalique. *Lyon Méd.*, **191**, 20, 413, (1954).
- PLAUCHU (M.), MOREL (P.). — Valeur séméiologique de la plasmocytose sanguine et médullaire. *Lyon Méd.*, **187**, 273, (1952).
- PLENK (A.), PRETL (K.). — Peripheres endobronchiales Plasmozytom der Lunge mit Osteopathia hypertrophicans. *Wien. med. Wschrft.*, **6**, 450, (1953).
- POLI (E.). — Analisi di alcuni punti della problematica attuale del plasmocitoma. *Bollettino di Oncologia. Lega Italiana contro il Cancro*, **27**, 5, (1953).
- POLI (E.). — Fisiopatologia e clinica del protidoplasma. *Delfino éd.* (1951).
- DI GUGLIELMO (R.), ANTONINI (F. M.). — Contribution à la connaissance de la maladie de WALDENSTROM, *Sang*, **26**, 249, (1955).
- POLONOVSKI (M.), DELBARRE (F.). — Le proteine di Bence-Jones. *Stétoscopio*, **1**, 142, (1951).
- POLONOVSKI (M.), DELBARRE (F.). — Les protéines de Bence-Jones. *Exposés annuels de biochimie médicale*, **12**, 257, (1951).
- POLONOVSKI (M.), DELBARRE (F.), LEVY (J.). — Etude de la composition des protéines Kahlériennes et de leur teneur en méthionine. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **36**, 1273, (1954).
- POLONOVSKI (M.), DELBARRE (F.). — Etude biochimique de la cryoprotéinémie myélomateuse. *Sem. Hôp. Paris : Arch. Biol. Méd.*, **30**, B. 259, (1954).
- PUTNAM (F. W.), UDIN (B.). — Protein in multiple myeloma. I : Physiological study of serum proteins. *J. Biol. Chem.*, **202**, 726, (1953).
- PUTNAM (F. W.), STELOS (P.). — Proteins in multiple myeloma. *J. Biol. Chem.*, **203**, 347, (1953).
- QUATTRIN (N.), DINI (E.), PICCOLI (P.). — Le porpore con ipergamma-globulinemia e la macroglobulinemia emorragica. Studio semiologico differenziale e patogenico. *Min. Med.*, **46**, 1861, (1955).
- RAVAULT (P.), VIGNON (G.), DURAND (J.). — Les atteintes articulaires des myélomes multiples. *J. Méd. Lyon*, **32**, 1091, (1951).
- REINER (M.), STERN KURT (G.). — Electrophoretic Studies on the Protein Distribution in the Serum of the Multiple Myeloma Patients. *Acta Haematologica*, **9**, 19, (1953).
- RICE (W.). — Présence d'une fraction P.A.S. positive sur le papier d'électrophorèse, dans le sérum de myélomatose. *J. of Lab. and Clin. Med.*, **44**, 544, (1954).
- RIETTI (F.). — Multiple myeloma. Some points in the biochemistry and the histology. *Acta Haematol.*, **3**, 42, (1950).

- RIVA (G.), DIALER (K.), HASSIG (A.). — Untersuchungen zur Frage der Bence-Jonesschen Proteinämie. *Comunic. Schweiz. Gesell. f. Inn. Med., Chur.*, 1951. *In Schweiz. med. Wschrft.*, **81**, 974, (1951).
- RIVA (G.), DIALER (K.), HASSIG (A.). — Untersuchungen zur Frage der Bence-Jonesschen Proteinurie und Proteinämie. *Helv. med. Acta*, **18**, 401, (1951).
- ROBERTS (E.), RAMASARMA (G. B.), LEWIS (H. B.). — Aminoacids composition of Bence-Jones protein. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, **74**, 237, (1950).
- RUNDLES (R. W.), COOPER (G. R.), WILLETT (R. W.). — Multiple myeloma. IV. Abnormal serum components and Bence Jones protein. *J. Clin. Invest.*, **30**, 1125, (1951).
- RUNDLES (R. W.), REEVES (R. J.). — Multiple myeloma. II. Variability of roentgen-appearance and effect of urethane therapy on skeletal disease. *Am. J. Roent. a. Radium Ther.*, **64**, 799, (1950).
- RUSTITSKY (J.). — Multiples Myelom. *Dtsch. Ztschr. Chir.*, **3**, 62, (1873).
- RYCKEWAERT. — Le plasmocytome des os. *Sem. Hôp. Paris*, **7**, 2481, (1953).
- SACHS (B. A.), CADY (P.), ROSS (G.). — Lipémie anormale et glucides dans les myélomes. *Am. J. Med.*, **17**, 662, (1954).
- SANDKUHLER (St.). — Zur Klinik der Plasmocytomniere. *Deutsche Arch. Kl. Med.*, **193**, 434, (1948).
- Das heutige Bild des Plasmocytoms. *Dtsch. med. Wschrft.*, **76**, 168, (1951).
- SANDKUHLER (S.), HUGENTOBLE (F.). — Recherches sur les urines de 25 myélomes avec Bence-Jones. *Z. Clin. Med.*, **148**, 603, (1951).
- SANDOR (M.). — La fiche réticulo-endothéliale dans le myélome multiple. *C. R. Acad. Med.*, 5 Juillet (1955).
- SCHREIER (K.), PLUCKTUHN (H.). — Ueber die Aminosäurezusammensetzung der Bence-Jones Proteine. *Klin. Wschr.*, **30**, 677, (1952).
- — Untersuchungen über der Gehalt an freien Aminosäuren in Serum und Urin. *Biochem. Z.*, **320**, 447, (1950).
- SELIGMANN (F.), BERNARD (J.). — Quelques données apportées par l'électrophorèse en Hématologie. *Gazette Méd.*, 543, 2 Avril (1954).
- SONNET (J.), LOUIS (L.), HEREMANS (J.). — Les hydrates de carbone des paraprotéines sériques. Démonstration de la présence de fucose, galactose, mannose et glucosamine. *Acta Haemat.*, **14**, 193, (1955).
- SOULIER (J. P.). — Etude électrophorétique de 86 cas de protéinurie. *Presse Méd.*, **61**, 49, (1953).
- Etude électrophorétique de la protéinurie dans les myélomes. *Transfusion sanguine et actualités hématologiques*, p. 252. Masson Ed., (1954).
- L'Electrophorèse dans le myélome. *Sang*, **21**, 37, (1950).

- STEIN (W. H.), CAREY (G. C.). — Chromatographic investigation of the amino acid constituents of normal urine. *J. Biol. Chem.*, **201**, 45, (1953).
- SVEDBERG (T.), PEDERSEN (K. O.). — The Ultracentrifuge, Oxford, (1940).
- SWAHN (B.). — Studies on blood lipids. *Scand. J. of Clin. Lab. Invest.*, Vol. 5, Supplément 9, (1953).
- TEN THIJE (O. J.). — De eiwitten in urine en serum bij de Zieckte van Kahler. *Drukkerij Fa. schotanus a. Jens., Utrecht*, (1954).
- TERRASSE, CUVELIER, MOULY, BERGER CAVAROC. — Le rein myélomateux. *Presse Méd.*, **62**, 919, (1954). — (Soc. Méd. Clermont-Ferrand, 26, mars (1954).
- TIZZANI (R. J.). — Microélectrophorèse sur papier du sérum humain normal (Glyco et lipoprotides). Etude statistique de 350 cas. *Thèse, Lyon*, (1955).
- UDIN (B.), PUTNAM (F. W.). — *Federation proc.*, **10**, 262, (1951).
- VERNIORY (A.), COERS (C.). — Blood and urinary proteins in myelomatosis. *Acta Clin. Belg.*, **4**, 237, (1949).
- VERNANT (P.). — La maladie myélomateuse. *France Méd.*, **14**, 9, (1951).
- VIEUX (R.). — L'électrophorèse du sérum dans les Hémopathies malignes. (A propos de 173 observations). *Thèse, Lyon*, (1955), N° 224.
- WALDENSTROM (J.). — Abnormal Protein in Myeloma. *Adv. Int. Med.*, **5**, 398, (1952).
- Incipient myelomatosis or « Essential » hyperglobulinemia with fibrinogenopenia. A new syndrom ? *Act. Med. Scand.*, **117**, 216, (1944).
 - Recherches cliniques et physicochimiques sur les hyperglobulinémies. *Presse Méd.*, **57**, 214, (1949).
 - Three new cases of purpura hyperglobulinemica. *Acta Med. Scand. Suppl.* **216**, 931, (1952).
 - Ultracentrifugation et hyperglobulinémie. *Congrès Franç. de Méd.*, **27**, 49, (1949).
- WHITE (St), TILLINGHAST (A. J.). — Multiple Myeloma. Analysis of Twenty One proved cases. *Am. J. Roentgen. a. Rad. Ther.*, **63**, 851, (1950).
- WIEDEMANN (E.). — Electrophorese Versuche an Serum und Plasma. *Schweiz. Med. Wschr.*, **76**, 241, (1946).
- Zur Characterisierung des Morbus Waldenstrom mittels electrophorese und Ultra centrifuge. *Klin. Wschr.*, **31**, 933, (1953).
- WUHRMANN (F.), WUNDERLY (Ch.). — Die Blut Eiweisskörper des Menschen, Bâle, (1952).
- WUHRMANN (F.), WUNDERLY (Ch.), HUGENTOBLE (F.). — Blood proteins examinations in 60 cases of plasmocytoma. *Dtsch. med. Wschrft.*, **74**, 481, (1949).
-

TABLE DES MATIÈRES

	PAGES
INTRODUCTION-HISTORIQUE	17
 CHAPITRE I. — Les techniques utilisées	 19
I. L'électrophorèse	19
II. L'ultra-centrifugation	23
III. Dosage de l'azote aminé urinaire	24
IV. Chromatographie des acides aminés urinaires..	25
V. Analyse de la protéine de Bence Jones	26
 CHAPITRE II. — Observations	 29
Commentaires	35
 CHAPITRE III. — Etude des protéines sériques	 37
I. L'hyperprotéïnémie	37
II. L'électrophorèse	38
III. L'ultra-centrifugation	46
IV. Examens complémentaires	52
 CHAPITRE IV. — Protéines et acides aminés urinaires ..	 55
I. Electrophorèse des protéines urinaires	55
II. L'ultra-centrifugation	58
III. Etude des acides aminés urinaires	59
IV. La protéine de Bence Jones et son analyse ...	62
V. Comparaison des diagrammes sériques et urinaires établis après ultra-centrifugation et électrophorèse	68

CHAPITRE V. — Discussion et essai d'interprétation	71
I. Rappel des éléments de diagnostique biologique de la maladie de Kahler	71
II. Étude analytique des observations en fonction de ces critères	74
III. Essai d'interprétation	78
CONCLUSIONS	81
BIBLIOGRAPHIE	83

IMPRIMERIE DE TRÉVOUX — J. PATISSIER.
